REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA

VOLUME 18 JUNHO, 1958 NÚMERO 2

THE LOCAL SHWARTZMAN PHENOMENON IN SWISS-WEBSTER MICE [1]

A. OLIVEIRA LIMA and M. BARRETO NETTO
Faculdade Nacional de Medicina, Rio de Janeiro, D.F.

(With 7 text-figures)

Attempts to produce the classical local Shwartzman phenomenon in mice have generally been unsuccessful (3, 1, 9, 11, 10)

HOMMA (4) reported that this phenomenon could be elicited in mice when a single or two intradermal injections of endotoxins spaced 24 hours apart are followed by an intravenous injection 18 to 20 hours later. Unfortunately, the histologic findings of skin lesions were not mentioned in this report.

STONE & FREUND (12) who failed to confirm HOMMA's conclusions, showed that a Shwartzman reaction could be induced in Swiss-albino mice when the lip was used as the site of injection of preparatory dose of endotoxin. Two methods were employed to demonstrate the hemorrhagic reaction. In the first method, intralabial preparation was followed by the injection of endotoxin 20 hours later into the tail vein or the peritoneal cavity. Positive results were obtained in 10 to 20% of mice using from 500 to 1.500 mcg of one endotoxin from *E. coli*. The other method involved the use of mice sensitized to foreign proteins. The injection of homologous antigen into the endotoxin-prepared lip of sensitized mice 20 hours after preparation, regularly caused a hemorrhagic reaction in the lip. Smaller amounts of endotoxins were sufficient to evoke a reaction. This histologic findings showed that the above reactions were similar to those described in the classical local Shwartzman phenomenon of rabbits.

In a study of 14 strains of mice to determine their susceptibility to the local Shwartzman phenomenon, KELLY *et alii* (5) showed that three of these strains developed, in a high percentage, a hemorrhagic lesion at the site of a single, large, intradermal dose of endotoxin. Some increase in the incidence of this lesion was attained when the intradermal dose was followed in 24 hours by an intravenous injection. Although the reaction obtained in

[1] Received for publication February 6, 1958.
This research was done under the auspices of The National Research Council of Brazil.

these susceptible strains resembled in the gross and microscopically the typical picture as described in rabbits, the phenomenon was considered as "Shwartzman-like" rather than as the classical Shwartzman reaction.

It has been claimed (12) that the failure to elicit the local Shwartzman phenomenon in the mouse by the more conventional method may be due to failure to meet the proper conditions for its demonstration rather than to any absolute resistance of this animal.

In a previous report (6) we described experiments showing that the local Shwartzman phenomenon could be regularly elicited in the Swiss-Webster strain of mice provide that large "preparatory" doses of a potent endotoxin are employed and the mice used are over 8 months old. In this paper we have presented data confirming and extending the results of our previous report.

MATERIAL AND METHODS

Animals: Swiss-Webster mice, with ages ranging from 2 to 14 months were housed, 10 animals per cage, with free access to tap water and food. This strain of mice has been pen-bred at Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil, since 1955.

Lipopolysaccharides: The lipopolysaccharides (endotoxins) employed in our experiments were derived from *S. typhosa, E. coli* and *S. marcescens*. The preparation from *S. typhosa* was isolated and purified following the method of WEBSTER *et alii* (4); from *E. coli* 026:B6 was obtained from Difco Laboratories through the kindness of Dr. C. W. CHRISTENSEN; from *S. marcescens* was prepared according to the method of PERRAULT & SHEAR (7). Fresh solutions of the dry lipopolysaccharides in sterile pyrogen-free saline were prepared for each experiment. Detail of dosages with these preparations are given in Experimental Results.

EXPERIMENTAL RESULTS

THE INFLUENCE OF AGING ON THE SUSCEPTIBILITY OF SWISS-WEBSTER MICE TO THE LOCAL SHWARTZMAN PHENOMENON

In our previous report (6) we showed that the classical local Shwartzman phenomenon could be elicited regularly in our Swiss-Webster strain of mice provided large "preparatory" dose of a potent endotoxin are employed and the mice used are over 8 months old. With such a technique it was possible to induce skin hemorrhagic reaction in 70 to 80% of the mice.

The mice we prepared with 0.500 or 0.800 mg of lipopolysaccharide from *S. typhosa* injected intradermally in the abdominal wall and challenged intravenously 24 hours later with 0.200 or 0.250 mg of this substance. The abdominal wall was epilated with a sharp razor 3 days prior to injection. As control, each animal received 0.1 ml of pyrogen-free saline intradermally in the other

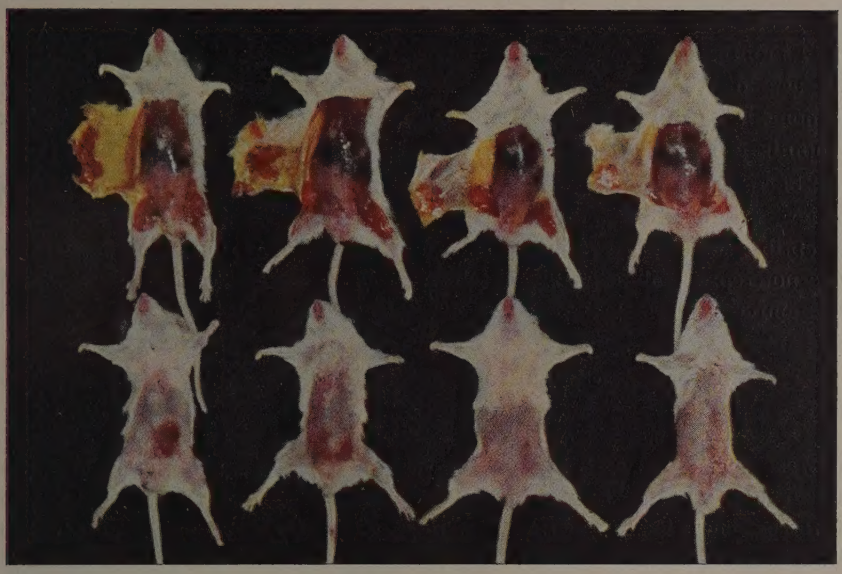


Fig. 1 — Hemorrhagic skin reactions in mice 8 months old given 500 mcg lipopolysaccharides from *S. typhosa,* followed in 24 hours by 200 mcg intravenously. Picture taken 24 hours after intravenous injection.

side of the abdominal wall. Two, 4, 8 and 24 hours after the intravenous injection the mice were inspected for evidence of hemorrhagic and necrosis at the site of the preparatory injection.

TABLE I

Variations in age susceptibility of Swiss-Webster mice to the local Shwartzman phenomenon

Age of mice in months	*S. typhosa* lipopolysaccharide (mg/mouse)		Hemorrhagic skin lesion (abdominal wall) 24 hours after the intravenous "provocative" injection
	Intradermal "preparatory" dose in 0.1 ml saline	Intravenous "provocative" dose in 0.2 ml saline	
2.....	0.500	0.200	2/20 (*)
2.....	0.800	0.250	2/19
4.....	0.500	0.200	1/18
4.....	0.800	0.250	3/20
6.....	0.800	0.250	3/20
8.....	0.500	0.200	15/20
12.....	0.500	0.200	17/20
14.....	0.500	0.200	16/19

(*) Numerator: number of mice with skin lesion
Denominator: number of mice injected

Table I shows the results obtained in 8 lots of mice with ages between 2 to 14 months old. As can be seen, there was a definite relationship between the age of the mice and their ability to react to the local Shwartzman phenomenon, with greater incidence of positive reactions among animals over 8 months old.

These results showed that the age of the mice was one of the conditions to be considered for the regular production of this phenomenon in a susceptible strain. In young animals (between 2 and 4 months old) the results were not reproducible in our experiments even when larger doses of endotoxin were employed.

THE GROSS AND MICROSCOPIC APPEARANCE OF THE SKIN LESION

Generally, the skin reaction make its appearance at the end of 2 hours, and reaching at the end of 4 to 8 hours an area of reddish-purple coloration measuring from 5 to 20 mm in diameter (fig. 1). The appearance and evolution of these hemorrhagic reactions are similar to those described in the local Shwartzman phenomenon of rabbits. No further extension of the lesion occurred after 24 hours, and they generally faded in color during the next 4 days.

Representative sections of histologic picture of biopsis taken 4 and 24 hours after intravenous injection are illustrated in figs. 2 to 7. The skin reaction is characterized by moderate to severe local inflammation, with small blood vessels dilated and occluded by aggregate of platelets and leucocytes and by extensive hemorrhage and necrosis. The histologic appearance of these lesions caused by lipopolysaccharides varied greatly, depending on the age of the lesions. Sections from mice which did not developed hemorrhagic skin

TABLE II

The comparative effect of three different lipopolysaccharides on the local Shwartzman phenomenon in mice

Source of lipopoly-saccharide	Lipopolysaccharide (mg/mouse)		Hemorrhagic skin lesion (abdominal wall) 24 hours after the "provocative" injection
	Intradermal "preparatory" dose in 0.1 ml saline	Intravenous "provocative" dose in 0.2 ml saline	
S. typhosa.....	0.800	0.200	16/20 (*)
E. coli.....	0.800	0.200	14/18
S. marcescens.....	0.800	0.200	15/19

(*) Numerator: number of mice with hemorrhagic lesion
Denominator: number of mice injected

lesions following injection of lipopolysaccharides, both intradermally only and intradermal followed by intravenous, showed only mild damage comparable to that found in the saline control site.

Primary hemorrhagic lesions at the site of a single high intradermal dose of lipopolysaccharide, as described by KELLY *et alii* (5) were observed occasionally, but in an incidence not higher than 5%.

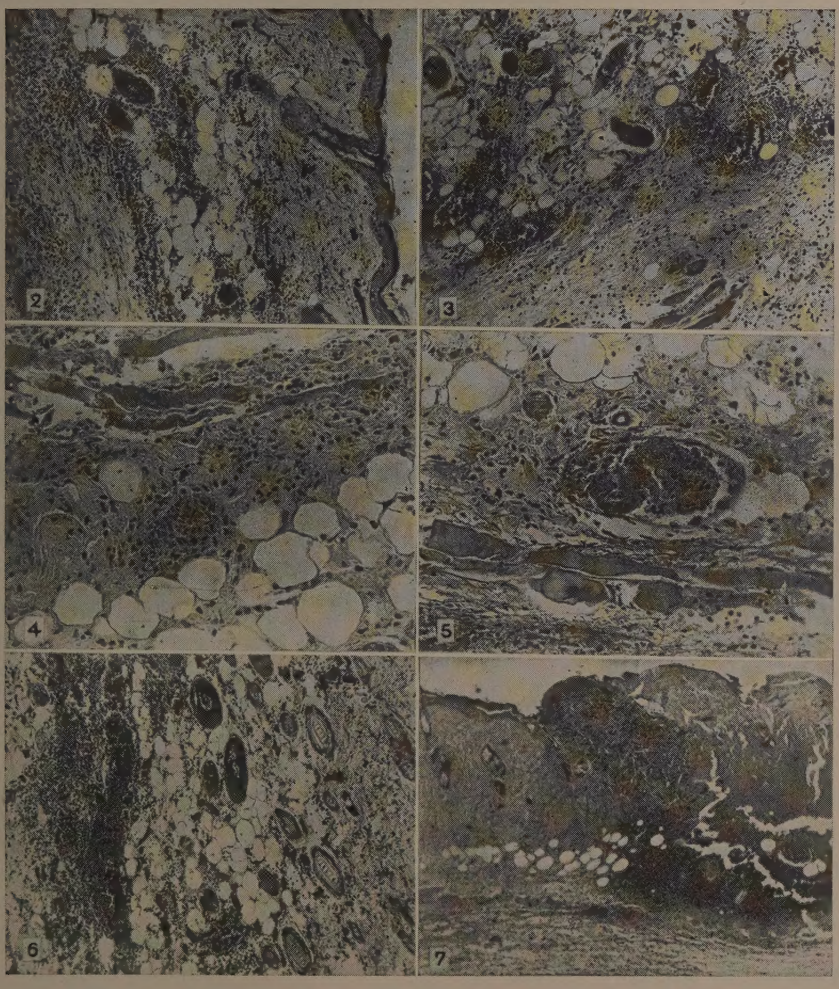


Fig. 2 — Low power showing edema and hemorrhage of the dermis and hypodermis, deep and massive infiltration by polynuclear neutrophils; fig. 3 — capillaries showing enormous dilatation and hyperemia; fig. 4 — nodular and difuse infiltration of the hypodermis by polynuclear neutrophils (necrobiotical changes of the muscle fibers of the abdominal wall are also observed); fig. 5 — thrombosis of a small vessel and necrosis of muscle fibers; fig. 6 — extensive areas of hemorrhage; fig. 7 — severe necrotic changes of the epidermis, dermis and hypodermis with secondary neutrophil infiltration. (All sections were stained with hematoxylin and eosin).

EXPERIMENTS WITH LIPOPOLYSACCHARIDES FROM OTHER BACTERIA

In addition to *S. typhosa* lipopolysaccharide, similar preparations from *E. coli* and *S. marcescens* were also employed in some of our studies. All these preparations were found to be very potent in eliciting local Shwartzman phenomenon in rabbits. The dosage employed and the results obtained in our experiments in mice are summarized in Table II.

As can be seen, these lipopolysaccharides gave about the same proportions of skin hemorrhagic reaction as has been obtained with *S. typhosa* endotoxin.

INDUCED TOLERANCE TO ENDOTOXIN

It has been repeatedly demonstrated that the daily administration of increased doses of endotoxins from Gram-negative bacteria into rabbits, dogs and rat, induce a temporary nonspecific rate of tolerance to many of the effects of these endotoxins, including their pyrogenicity, their capacity to produce hemorrhagic and traumatic shock, and their ability to induce local and general Shwartzman phenomenon (14). In order to ascertain whether this phenomenon of increased tolerance to endotoxin could be induced in our strain of mice, the following experiments were carried out:

Fifteen male mice over 8 months old, received daily intraperitoneal injections for 6 days, respectively, of 0.50, 0.100, 0.150, 0.200 and 0.250 mg of *S. typhosa* lipopolysaccharide, in 0.25 ml saline. On the day following the last injection, each animal received 0.800 mg of the same lipopolysaccharide intradermally in 0.1 ml saline and 24 hours later 0.200 mg intravenously, in 0.2 ml saline. As control, 10 normal mice received the same doses of lipopolysaccharide both intradermal and intravenously.

TABLE III

Local Shwartzman phenomenon in mice rendered tolerants to endotoxin

Mice	*S. typhosa* lipopolysaccharide (mg/mouse)		Hemorrhagic skin lesion (abdominal wall) 24 hours after the "provocative" injection
	Intradermal "preparatory" dose in 0.1 ml saline	Intravenous "provocative" dose in 0.2 ml saline	
Resistants to lipopolysaccharide from *S. typhosa*.....	0.800	0.200	0/15 (*)
Contral.....	0.800	0.200	7/10

(*) Numerator: number of mice with hemorrhagic lesion
Denominator: number of mice injected

As shown in Table III, the results of these experiments indicated that a high degree of protection developed in the resistant mice against the local hemorrhagic effect of endotoxin. No skin lesion appeared in any of the animals given repeated injections of endotoxins, while extensive areas of hemorrhagic necrosis occurred in 7 out of 10 control mice.

PREVENTION OF HEMORRHAGIC LESION BY DIBENAMINE

It has been shown that certain adrenolytic drugs (8) at least in part inhibit the local Shwartzman phenomenon in rabbits by virtue of their ability to cause adrenergic blockade. Similar effects were observed by KELLY *et alii* (5) in mice using the adrenergic blocking agent SY-28 (N-ethyl-N (2-bromoethyl)-1-naphtylene—, ethylamine HBr). The following experiments were undertaken to study the effect of dibenamine (n-(2-chloroethyl) dibenzylamine Hydrochloride), an adrenolytic agent, on the local Shwartzman phenomenon in our strain of mice:

Twenty male mice with ages over 8 months old, were injected intradermally in the abdominal wall with 0.800 mg of *S. typhosa* lipopolysaccharide. Twenty-four hours later each animal received 0.005 mcg/g mouse of dibenamine 2 hours before, 15 minutes before and 15 minutes after the intravenous injection of 0.200 mg of the same lipopolysaccharide. Ten normal mice served as control and received the same doses of *S. typhosa* endotoxin.

The capacity of dibenamine to protect mice against the development of local Shwartzman phenomenon is clearly indicated in Table IV. Blocking of the local hemorrhagic reaction in mice by drugs which also block the development of the local Shwartzman phenomenon in rabbits is suggestive that the mechanism involved in the mouse reaction are similar to those observed in the rabbits.

TABLE IV

Prevention of the local Shwartzman reaction in mice by dibenamine

Mice	*S. typhosa* lipopolysaccharide (mg/mouse)		Hemorrhagic skin lesion (abdominal wall) 24 hours after the intravenous "provocative" injection
	Intradermal "preparatory" dose in 0.1 ml saline	Intravenous "provocative" dose in 0.2 ml saline	
Treated by dibenamine..	0.800	0.200	5/20 (*)
Control.....	0.800	0.200	14/19

(*) Numerator: number of mice with hemorrhagic lesion
Denominator: number of mice injected

DISCUSSION

As it is well known, various authors have consistently failed in their attempts to produce the local Shwartzman phenomenon in the mouse by the conventional method. A local hemorrhagic reaction has been provoked in this animal without using endotoxin for either the preparation or the eliciting injection (2). In other experiments a Shwartzman-like reaction has been produced by a single, high, intradermal injection of endotoxin (6, 13).

The results of the experiments reported in this paper showed that the local Shwartzman phenomenon could be elicited regularly in the Swiss-Webster mice provided that large preparatory doses of endotoxin are employed and the mice used are over 8 months old. Similar results were registered in our previous report (6).

It has been shown by several workers (5, 12) that large doses of endotoxin are required for the production of the local Shwartzman phenomenon in mice. However, as far as we know, the age of the mice has not yet been considered an important factor for the regular production of this phenomenon in a susceptible strain. According to our results, there existed a definite relationship between the age of the mice and their ability to react to the local Shwartzman phenomenon, with greater incidence of positive reactions in animals over 8 months of age. Similar results were registered by WITEBSKY & NETTER (15) in their studies on age susceptibility of rabbits. A high percentage of young animals were found refractory to the local Shwartzman phenomenon.

The gross and microscopic appearance of the hemorrhagic lesion induced in our strain of mice was found in accordance with all the accepted criteria for the local Shwartzman phenomenon, as described in rabbits. Furthermore, as has been demonstrated in other animals, this phenomenon did not appeared in any of the mice that became "resistant" after daily increasing doses of endotoxin. We could also show that the adrenergic drug, dibenamine, capable of protecting rabbits against the development of local Shwartzman reaction, was a powerful blocking agent of this phenomenon in mice.

SUMMARY

Experiments are described showing that the local Shwartzman phenomenon could be regularly elicited in the Swiss-Webster mice provided that large "preparatory" doses of a potent endotoxin are employed and the mice used are over 8 months old.

SUMÁRIO

As experiências realizadas mostram que o fenômeno local de Shwartzman pode ser regularmente provocado em camundongos da raça Swiss-Webster desde que se empreguem animais com idades acima de 8 meses e doses elevadas de endotoxina de reconhecida capacidade "preparadora".

REFERENCES

1. Apitz, K., 1933, Über hämorrhagische Hautreaktionen nach örtlicher Umstimmung. *Z. ges. exp. Med.*, 89:699-703.
2. Campbel, D. H., Farr, R. S. & Dindernecht, H., 1955, The production of hemorrhage in sarcoma 180 in mice by anaphylaxis and the inhibitory effect of cortisone on the hemorrhage-producing factor from E. coli. *J. Nat. Cancer Inst.*, 15: 1651-1655.
3. Gratia, A. & Linz, R., 1932, Les phénomenes de Sanarelli et de Shwartzman ou l'allergie hémorragique. *Ann. Inst. Pasteur*, 49:131-185.
4. Homma, J. Y., 1952, The Shwartzman phenomenon in the mouse. *Jap. J. Exp. Med.*, 22:17.
5. Kelly, M. G., Smith, N. H., Wodinsky, I. & Rall, D. P., 1957, Strain differences in local hemorrhagic response (Shwartzman-like reaction) of mice to a single intradermal injection of bacterial polysaccharides. *J. Exper. Med.*, 105:653-664.
6. Oliveira Lima, A. & Barreto Netto, M., The production of local Shwartzman phenomenon in mice *Proc. Soc. Amer. Bact.*, 1958, to be published
7. Perrault, A. & Shear, M. J., 1949, The bacterial cell of *S. marcescens* as a source of tumor-necrotizing polysaccharide. *Cancer Research*, 9:626-627.
8. Rall, D. P. & Kelly, M. G., 1957, The role of vaso-constriction in the local Shwartzman reaction. *J. Exper. Med.*, 105:643-652.
9. Shwartzman, G. & Michailovsky, N., 1932, Phenomenon of local skin reactivity to bacterial filtrates in the treatment of mouse sarcoma 180. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 29:737-741.
10. Shwartzman, G., 1937, *Phenomenon of local tissue reactivity*. Paul B. Hoeber, Inc., New York
11. Stolykwo, N., 1935, Untersuchungen über das Wesen der toxichen Stoffe der Typhus und Paratyphus bacillengruppe mit Hilfe des Shwarztmanschen hämorrhagischnekrotischen Phänomen. *Zbl. Bakt.* (Abt 1), 135:230-246.
12. Stone, S. H. & Freund, J., 1956, Local hemorrhagic reactions in the mouse and the rat after intralabial injection of endotoxin. Their relationship to the Arthus and the Shwartzman reactions. *J. Immunol.*, 77:423-429.
13. Thomas, L., 1954, Physiological disturbances produced by endotoxins. *Ann. Rev. Physiol.*, 16:467-490.
14. Webster, M. F., Sagin, J. F., Landy, M. & Johnson, A. G., 1955, Studies on the 0 antigens of *Salmonella typhosa*. I. Purification of the antigen. *J. Immunol.*, 74:455-465.
15. Witebsky, F. & Neter, E., 1936, Significance of age of rabbits for elicitation of Shwartzman phenomenon. *J. Immunol.*, 30:471-475.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 129-142
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

THE OXYGEN CONSUMPTION OF "ONYCHOPHORA" AND ITS RELATION TO SIZE, TEMPERATURE AND OXYGEN TENSION [1]

ERASMO G. MENDES and PAULO SAWAYA
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, São Paulo

(With 5 text-figures)

In 1936, HEATLEY took advantage of the fact that some *Onychophora* were being killed at Cambridge for embryological purposes and undertook the task of investigating their digestive enzymes, because "...Previous work on the Onychophora" had been "almost entirely morphological" and "...investigation into the biology and physiology of *Peripatus* should be of interest in view of the systematic position of the group and for comparison with other terrestrial invertebrates, particularly the arthropods". HEATLEY's work, in fact, can be regarded as one of the first serious physiological studies on the *Onychophora*, but unfortunately was not followed by extensive physiological observations on members of this group. Thus, in 1946, MORRISON again listed some of the reasons why physiologists should give more attention to the *Onychophora*: their unique combination of arthropod and annelid characters (SNODGRASS, 1938); their morphological, ecological and physiological homogeneity and their sporadic and fluctuating local distribution.

Now, the reason why until recently so much emphasis was placed upon systematic, morphological and ecological studies of the *Onychophora* and so little attention could be given to their physiology can undoubtly be sought in the geographical, ecological and biological peculiarities of these interesting Invertebrates. The northern limit of *Onychophora* is the Tropic of Cancer; in the Southern Hemisphere, however, they can reach temperate zones (CUÉNOT, 1949). The two families *Peripatidae* and *Peripatopsidae* occur in quite separate areas. *Peripatidae* in Central America, The Antilles, Congo's rain forests, Malacca, Sumatra and Borneo. *Peripatopsidae* in Southern Chili, South Africa and Indo-Australia. The separation line between the two families passes through the

[1] Received for publication November 23, 1957.

Wallacean Zone between Ceram and Borneo. The majority of species of *Onychophora* live in biotopes out of the easy reach of collectors, such as the interior of thick tropical or subtropical forests, under stones of fallen trees, in rotten wood or dead leaves; they exhibit strong photophobic reactions and are very sensitive to dessication, handling or transportation. All these peculiarities do help to understand why some decades ago any physiological study on *Onichophora,* depending on slow and often unsuccessful transportation to more advanced and well equipped research centers in Europe or United States, obviously discouraged experimental work. Only after the development of local research centers such as Barro Colorado (Panama) and Natal (South Africa) or quicker ways of transportation did *Onychophora* begin to receive on the physiological care which the importance of their phylogenetical position long demanded. Even so, relatively few experimental works have been done with *Onychophora,* as a review of the literature easily shows.

Attention has been focussed mainly on the process of water loss, to contrast *Onychophora* in this respect to comparable annelids and arthropods (Manton & Ramsey, 1937, Morrison, *l. c.,* Bursell & Ewer, 1950, Dodds & Ewer, 1952). Some aspects of feeding, digestion, excretion and food storage were studied by Manton (1937), with biochemical estimation and analysis by Heatley. Heatley *(l. c.),* as already mentioned, also investigated the digestive enzymes. Morrison *(l.c.)* gave the first data on the oxygen consumption of *Onychophora* and suggested the possibility of plastron respiration. Finally, Ewer & Van den Berg (1954) studied the responses of muscles of the dorsal body wall of *Peripatopsis* to drug action. That seems to be all, but evidently not enough. Heatley's suggestion made some 20 years ago, remains almost as alluring as before: more investigation into the biology and physiology of *Onychophora* continue to be of great interest.

Thanks to the kindness of Dr. Gerardo Trindade of Ouro Preto we had recently the unique opportunity of getting some living *Onychophora,* which could be quickly taken to the laboratory in São Paulo. We immediately took advantage of the good conditions of the animals to study their oxygen consumption in relation to size, temperature and oxygen tensions, as a first of a series of contributions to the physiology of *Onychophora* we plan to undertake.

MATERIAL AND METHODS

The *Onychophora* were collected at day time at the "Estação Experimental de Agricultura" of Tripui, near Ouro Preto, State of Minas Gerais, at an altitude of 1.100 m. Since they lead an endogenous life, not deeply though (together with earthworms, occasional spiders and a toad of the genus *Odontophrynus),* we had to dig carefully to catch them. They were more easily captured digging in the softly inclined surfaces of the sides of the roads, which usually were covered with a carpet of moss. They were transported by airplane to São Paulo

in the next day. In our laboratory they were kept in the dark, in a wooden box half filled with sifted earth from the capture's place, half covered with a piece of continuously wet filter paper. Fragments of tree bark were also placed inside the box as shelters to the animals. Although using as substrate earth from the capture's site, we never observed any tendency of the animals to bury themselves. They preferred to stay quietly under the barks. No attempt was made to give them any food, but it is possible that they ate eventual organisms contained on and inside the barks.

The species obtained in the Ouro Preto region was described by MARCUS & MARCUS (1955) as *Peripatus acacioi*.[2]

The oxigen consumption was measured in a Warburg apparatus in the dark, for the animals are photophobic. Since the use of this apparatus involves the knowledge of the volume of the gas phase inside the flasks, in each case the volume of the animal was previously determined in the following manner. The animal was put in a graduated cylinder and water added from a burette up to a mark high enough to make the animal completely submerged. By subtracting the number of cc. of water added from the value of the level reached in the cylinder the volume of the animal was roughly calculated. In the calculation of the kO_2 the amount of oxygen present in the fluid phase, which was solely formed by the 0.3 ml of 12% KOH added to the center well, was neglected. No filter roll also was added to the center well from fear that, after imbitition with KOH, it might injury the animals, in their wanderings inside the flasks. After the experiments, the animals were carefully removed from the flasks and weighed. More details of the technique will be given when describing the experiments and the results. In all cases the exprimental flasks were gently shaken (ca. 30 strokes per min.), and each contained just one animal.

EXPERIMENTS AND RESULTS

The respiratory rate: its relation to size — In this series the oxygen consumption of the animals, at 20°C, was followed, after ten minutes for temperature equilibration, during 75 minutes, with readings each 15 minutes. In the calculation of the respiratory rates (cu.mm.O_2/mg (w)/h), the O_2 uptake during the first 15 minutes was discarded, because it often disagreed with following 15 minutes. This disagreement was possibly due to the fact that during that time some residual temperature equilibration was still taking place and the animal had not yet reached the quietness in which "resting" or basal respiratory values could be produced.

[2] This species has also been described elsewhere by Dr. Gerardo Trindade as *P. ouro-pretanum*.

TABLE I

The respiratory rate of Peripatus acacioi, **at 20°C and in the dark, and its relation to wet weight and the two thirds power of the weight.**

Wet weight in mg	cu.mm.O_2/ mg(w.)/h.	cu.mm.O_2/ $mg^{2/3}$/h.
175	0.088	0.049
185	0.125	0.071
187	0.109	0.062
187	0.153	0.087
200	0.101	0.059
210	0.151	0.089
211	0.102	0.061
211	0.129	0.077
218	0.102	0.061
349	0.111	0.078
372	0.063	0.045
382	0.104	0.075
397	0.088	0.065
397	0.099	0.073
410	0.097	0.072
413	0.081	0.060
443	0.115	0.088
443	0.095	0.072
455	0.113	0.090
456	0.100	0.085
484	0.119	0.093
484	0.081	0.064
		0.072 ± 0.040

In table I the animals are disposed according to their increasing body weight. No clear cut correlation between size, as expressed by wet weight, and respiratory rate can be observed. Figure 1 and especially fig. 2 (because here

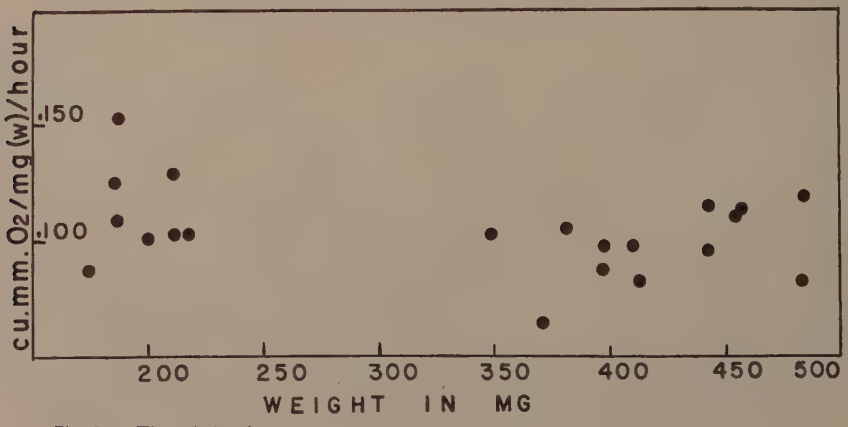


Fig. 1 — The relation between oxygen consumption and wet weight in *Peripatus acacioi*.

the points represent the mean values for groups of adjoining weights) however do show some clear inverse correlation between weight and respiration, as previously reported for a great number of Invertebrates.

Compared on the $W^{2/3}$ basis, the results also do not quite exhibit that uniformity one would expect from the general assumption that metabolism is more nearly proportional to the two thirds power of the weight (KROGH, 1916).

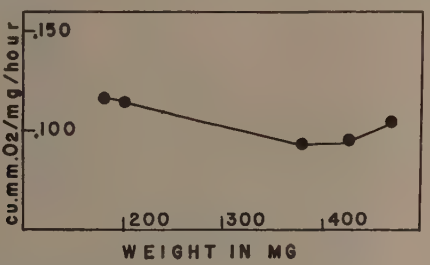


Fig. 2 — The relation between oxygen consumption and wet weight in *P. acacioi*. The points represent mean values for groups of adjoining weights.

Due to the fact that only a restrict number of animals were at disposal for the experiments, we had to use a same animal several times. Table II, however, shows for some of the animals that, despite of the long stay in the laboratory and of being used in more than one experiment, a same animal did not suffer significant respiratory depressions. On the contrary, as a rule, higher values were registered in the second week than at the end of the first week in the laboratory. Table II also serves to show the variation of the wet weight during the experiments. Only in one case (C) a remarkable loss of weight is to be observed (349 to 211).

TABLE II

The respiratory rate of Peripatus acacioi, **at 25°C and in the dark, during two weeks of life in the laboratory conditions**

Day in the Laboratory	Body weight (mg) x cu.mm.0_2/mg(w.)/h.					
	A	B	C	D	E	F
6th	200/0.101	218/0.102	349/0.111	372/0.063	410/0.097	413/0.081
12th	175/0.088	187/0.109	211/0.102	397/0.088	443/0.095	484/0.116
13th	185/0.125	187/0.153	211/0.129	397/0.099	443/0.115	484/0.119
14th	—	—	211/0.110	382/0.104	455/0.110	456/0.110

Respiratory rate and temperature — In this series, the respiratory rate of a lot of six animals was measured in the following sequence: in the morning at 20°C, in the afternoon at 30°C and next morning at 10°C. The room temperature during the experiments varied from 16°C to 18°C. The results are exposed in table III.

TABLE III

The influence of temperature upon the respiratory rate of Peripatus acacioi

Exper. Series	Temperature (°C)	Number of cases	cu.mm.O_2/ mg(w.)/h.
B	10	6	0.037 ± 0.008
	20	6	0.092 ± 0.016
	30	6	0.226 ± 0.020

This clearly show that the variation of temperature greatly influences the oxygen uptake. The Q_{O_2} at 10°C is only 40% of that at 20°C and at 30°C it is about 2.45 times that measured at 20°C ($Q_{10} = 2.45$).

Respiratory rate and oxygen tension — To test the influence of lowering the oxygen tension on the oxygen consumption, the respiratory rates of a same lot of six animals were determined, at 20°C and in the dark, during five successive days, the animals being given a rest period between two determinations of at least 20 hours. The following oxygen percentages (tensions in mm Hg) were tested: 21 (147.4), 15 (105.3), 10 (70.2), 5 (35.1) and 2.5 (17.5). Flasks with sidebulbs provided with venting plugs were used. After placing the flasks in the bath, the gas mixture of N_2 and O_2 of the desired percentage of oxygen was allowed to perfuse each flask for 15 minutes. Then, the stoppers and plugs were closed and 10 minutes later the stoppers were reopened and the levels adjusted in the manometers for the zero readings. New readings were taken at 15 minutes intervals during 75 minutes, the manometric excursion during the first 15 minutes discarded as usual in the calculation of the Q_{O_2}. Table IV and figure 3 show the results obtained.

TABLE IV

The influence of the oxygen tension on the respiratory rate of Peripatus acacioi **(Temp. 20°C, mean local atmospheric pressure: 702 mm Hg)**

Exper. Series	O_2 tension (in %)	Number of cases	O_2 uptake in cu. mm. / mg (w.)/h.	Variation P (in %)	
D	21	6	0.092 ± 0.016	—	—
E	15	6	0.087 ± 0.018	95	0.7
F	10	6	0.061 ± 0.007	66	0.0
G	5	6	0.073 ± 0.009	79	0.01
H	2.5	6	0.073 ± 0.011	79	0.05

At 15%, the respiratory rate is not significantly less than in the air. From 10% downwards, however, significant depressions were registered at 5% and 2.5% and a highly significant depression at 10%.

We also tested the influence of a sudden change of oxygen tension on the respiratory rate, using two hour experiments in which concomitantly and possible decline in respiration due to the longer stay in the flasks was also checked.

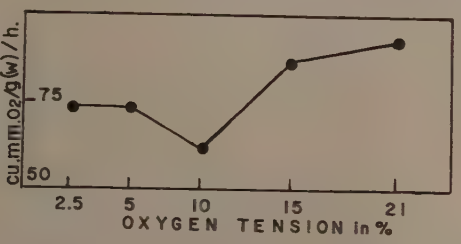


Fig. 3 — The oxygen consumption of *P. acacioi* at different oxygen tensions.

Table V and figure 4 show the effect of switching from air oxygen tension to 2.5% oxygen and also 1st and 2nd hour rates in the air.

TABLE V

The effect of switching from air to 2.5% oxygen on the respiratory rate of Peripatus acacioi **(20°C, local atmosph. press. 702 mm Hg)**

Exper. Series	Number of cases	Oxygen tension (%)		Resp. rate in cu.mm.O_2/mg(w.)/h.		P	2nd h. rate as % of 1st
		1st hour	2nd hour	1st hour	2nd hour		
I	8	21	21	A_1 0.122 ± 0.020	A_2 0.099 ± 0.016	0.1	81
	8	21	2.5	B_1 0.104 ± 0.011	B_2 0.056 ± 0.018	0.01	54
				A_2 to B_2		0.01	

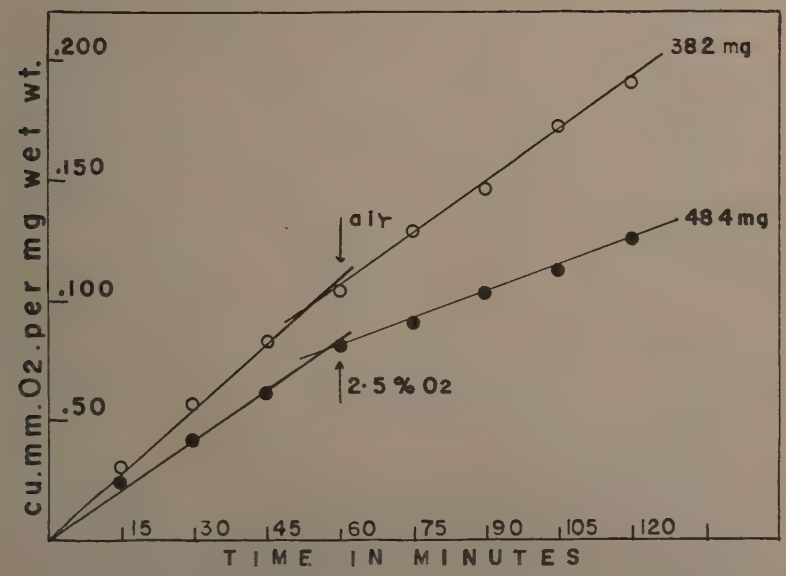


Fig. 4 — The effect of switching from air to 2.5% O_2 on the respiration of *P. acacioi*.

The results indicate that when in the second hour the animals continued to be exposed to air, the respiratory rate was reduced to only 81% of that of first hour, the difference between the means however being not significant, as indicated by the P value. On the contrary, the differences between the second hour rates (A_2 and B_2) or between the first hour rate in air (B_1) and second hour rate at 2.5% 0_2 (B_2) are highly significant.

Table VI and figure 5 show the effect of switching from 5% or 2.5% 0_2 to air.

TABLE VI

The effect of switching from low oxygen tensions to air on the respiratory rate of Peripatus acacioi **(20°C, local atmosph. press. 702 mm Hg)**

Exper. Series	Number of cases	Oxygen tension (%)		Resp. rate in cu.mm.0_2/mg(w.)/h.		P	2nd h. rate as % of 1st
		1st hour	2nd hour	1st hour	2nd hour		
J	8	2.5	21	A_1 0.073 ± 0.011	A_2 0.088 ± 0.029	0.4	120
	8	5	21	B_1 0.073 ± 0.009	B_2 0.085 ± 0.017	0.2	116

A slight increase in respiration is to be observed in both cases. Judging, however, from the calculated P values, the differences between the means in the two cases are not significant.

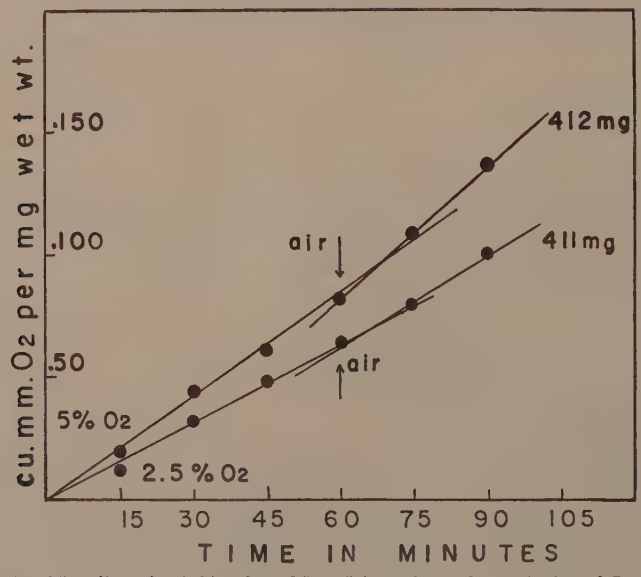


Fig. 5 — The effect of switching from 2.5 or 5% to air on the respiration of *P. acacioi*.

DISCUSSION

MORRISON's paper (*l. c.*) is to our knowledge the only previous work concerned with the measurement of the oxygen uptake of *Onychophora*. Unfortunately, however, as MORRISON himself admits, his observations were "by no means complete". Because, however, the literature contained little date on living *Onychophora* and there was no prospect of getting further supply of these "unusual animals", MORRISON chose to present his results (which also included data on water loss) at the time. MORRISON also used a Warburg apparatus to measure the oxygen consumption of *Peripatus* (at 25°C) over a period of 60 minutes. There is no statement in his paper as to whether he measured the respiratory rate in the dark or not, nor information is given as to the shaking rate. It also seems that he did not perform enough measurements for a statistical analysis of the data. As a matter of fact the impression is that he got only one chance of measuring the oxygen uptake of a single individual. Nevertheless, he could also observe a restless initial period in the flasks, as we did, and this gives us further reason to have discarded in our experiments the 0_2 uptake during the first 15 minutes. As MORRISON we also got, after this restless period, a uniform rate of oxygen consumption (see, for instance, fig. 4).

Having a chance to use a much larger number of animals, we could obtain enough data for an appraisal of the relation in *Peripatus* between wet weight and $Q0_2$. As shown by table I and figs. 1 and 2 there is no marked relation at 20°C, between weight and respiration. Nor in this relation more marked in the two series of experiments at 10 and 30°C. It is possible that a varying rate of water loss inside the flasks might have influenced in the results, since the animals were weighed at the end of the experiments.

Compared on the basis of the two thirds power of the weight (surface area), the results do not completely agree with MORRISON's view on *Onychophora* respiration. In fact, MORRISON reports that an *Epiperipatus* weighing 650 mg consumed at 25°C, 0.200 cu.mm.0_2 per $mg^{2/3}$ and hour, as compared to 0.100 for a 96 mg earthworm and 0.220 for 3 x 111 mg millipeds. He therefore concluded that *Peripatus* agrees more closely with Arthropods and has a higher respiratory rate than earthworms.

Now, apart from the fact that MORRISON used Arthropods and earthworms collected in Massachussetts to compare with tropical *Peripatus* (the small earthworm from Barro Colorado found among the debris was also used?), members of our laboratory (see table VII) obtained figures for similar animals which do not exactly fit MORRISON's interpretation. In fact, these figures indicate that the tropical earthworms *Pontoscolex* and *Pheretima*, on the basis of the surface area, have an oxygen consumption of the same order as *Epiperipatus*, at the same temperature or at 20°C, and higher than MORRISON's earthworm. Inversely, our Isopod exhibited a lower figure (comparable to MORRISON's earthworm) than the pillbugs of Massachussetts at the same temperature. Our

Onychophores, at 20°C, respired much less than MORRISON's at 25°C, their rate being closer to that of *Armadillidium*. It is possible, however, that the difference in temperature, in the two cases, may have influenced in the observed discrepancy, since at 30°C, the oxygen uptake of our *Peripatus*, referred to $W^{2/3}$, is much closer to that of MORRISON's animals, as shown by the two cases of table VII.

TABLE VII

A comparison of the respiratory rate of earthworms, Onychophores and Arthropods

Group	Species	wet wt. (mg)	Temp. (°C)	cu.mm.0_2/ mg/h.	cu.mm.0_2/ $mg^{2/3}$/h
Earthworms.....	*Lumbricus* (?)*	96	25	0.220	0.100
	*Pontoscolex***	381	25	0.254	0.184
	*Pheretima****	651	25	0.271	0.235
	*Pheretima*****	381	20	0.165	0.119
Onychophora.....	*Epiperipatus**	680	25	0.230	0.200
	Peripatus	382	20	0.104	0.075
	Peripatus	200	20	0.101	0.059
	Peripatus	371	30	0.246	0.175
	Peripatus	216	30	0.242	0.145
	Peripatus	395	10	0.030	0.022
	Peripatus	202	10	0.035	0.020
Isopods.....	*Armadillidium****	195	25	0.180	0.101
	*Oniscus**	5x61	25	0.350	0.140
Myriapoda	Millipeds*	3x111	25	0.460	0.220
	Centipeds*	2x69	25	0.560	0.220

*MORRISON, 1946 **MENDES & VALENTE, 1953 ***MENDES, 1951
****MENDES, GOMES & OLIVEIRA (unpublished).

Temperature, therefore, do affect *Peripatus* respiration as better shown in table III. In Tripui, during the winter months, the temperature specially at the early hours of the morning can go down to zero. It is improbable, however, that inside the earth, it also goes down to such a low level, since soon after the sunrise, the external temperature quickly rises again, warming up the earth. When we captured our animals (at more or less 2 PM), the air temperature was about 16-18°C and in the laboratory it was kept about the same throughout the experiments. MORRISON's animals both from Panamá, stayed in good conditions at 25°C. South African *Peripatus*, on the contrary, become uneasy at temperatures above 20°C, although not even freezing temperature seems to bother them (MANTON, 1938). *Peripatus* from New Zealand and Australia (HUTTON, 1876 and STEEL, 1896 *apud* MORRISON, *l. c.*) become torpid during the winter but with no ill effects. Our *Onychophora* emerged quite well from the experiments at 30 or 10°C. The fact, however, that they more than doubled respiration at 30°C might be interpreted as a compensatory metabolic increase to face dissecation. The water loss in *Peripatus* at 30°C is 2-3 times that at 25°C (MANTON & RAMSEY, 1937, MORRISON, *l. c.*) and the animals become uneasy and in vigorous motion

whenever an increase in dryness occurs. On the other hand, the reduction of the $Q0_2$ at 10°C is in accordance with the torpidity observed in other species during winter time.

Our results indicate that in *Peripatus* respiration is significantly depressed from 10% 0_2 downwards and hence that the ability of regulating respiration is relatively poor. It is hard to explain why at 10% 0_2 (table IV) respiration was more significantly depressed than at 5 or 2.5%. In the 8 cases, however, of table V, the depression in respiration at 2.5% 0_2 was highly significant whether one compares the rate at this tension with the first hour rate of the same lot in air or with the second hour rate of another lot which continued to be exposed to air. The joint treatment of the data of tables IV and V does point to a highly significant difference between the rates at 21 and 2.5% O_2 ($P<0.01$).

In Onychophores, respiration takes place through the general surface or by thacheae, unassisted by circulation. The tracheas were discovered by Moseley (1874, *apud* Cuenot, *l. c.*). Their spiracles are scattered all over the body, mainly on the dorsal side. Each of them is connected only with one tracheal pouch from which 2-3 bundles of fine, isolated tracheae depart to the muscles, the intestine, the nervous system and the genitalia. Onychophores can be classified among those tracheate animals with no specific respiratory moviments, in which "the pressures set up in the body fluid by locomotion or even by violent struggling can cause ventilation only which are too small to be significant" (Krogh, *l. c.*). The whole gas transport, therefore, must take place by diffusion in the tracheae or through the chitinous integument, which contrarily to that of the majority of the true Tracheata, is permeable to oxygen. This peculiarity of the *Onychophora* integument makes the situation rather different from that observed in those Tracheata where also no mechanical ventilation occurs. Little or practically nothing is known concerning the process by which regulation of diffusion takes place in the *Onychophora*. In those non ventilating Tracheata, however, mechanisms exist at both ends of the tracheae to provide an effective adaptation of diffusion to the requirements of the moment (Krogh, *l. c.*). Spiracles, for instance, are kept open whenever the temperature or the CO_2 concentration rise above a certain level or any struggling occurs, but they react only indirectly or feebly to oxygen lack (Hazelhoff, 1926, *apud* Krogh, *l.c.*). The ecological significance, however, of the diffusion regulation, according to Hazelhoff (*l. c.*), Wigglesworth (1935) and Krogh (*l. c.*) is to be sought in the reduction of the water loss rather than in an adjustment to a changing external concentration of oxygen. Provided a steeper concentration gradient is established, the gas exchange is not reduced when the spiracles obstruct the passage and, at least in terrestrial insects, the oxygen consumption appears to be independent of the oxygen tension over a wide range (Edwards, 1953). On the basis of these informations, the significant depressions observed from 10% O_2 downwards in our Onychophores might be interpreted as indicating that here cutaneous respi-

ıation prevails over tracheal and hence that in what concerns respiratory exchange Onychophores are closer to terrestrial Annelids than to Tracheata[8]. In fact, it has been reported, among others by JOHNSON (*l.c.*), that in an earthworm (*Lumbricus herculeus*), below 10% O_2 the respiratory rate falls sharply. Now, in earthworms respiration is only cutaneous, although assisted by circulation (and hemoglobin!). This last peculiarity would perhaps account for the fact that in these oligochaetes significant depressions were only obtained below 10% O_2, whereas in Onychophores they were already registered at 10% O_2. A further evidence pointing to the poor regulating ability of Onychophores is to be found in the significant depression exhibited when the oxygen tension was suddenly changed from air to 2.5. The fact that switching from low (2.5 or 5%) to air tension did not increase respiration to the level observed in other experiments started at 21% O_2 is perhaps partly due to the prolonged (2 hours) stay in an unnatural environment (the shaked Warburg flasks), but in part could also be explained by a slow capacity of adjustment to a sudden increase of the available oxygen.

Finally, it must be emphasized that, although taking for granted that the rate measured at 21% in our experiments *is* the normal respiratory rate of our animals, it still remains to be shown, afer properly measuring the oxygen tension inside the animals galleries in Tripui, which is the *natural* rate in a comparable environment. Only then a definitive word about the regulating capacity of Onychophores can be pronounced.

SUMMARY

1. The oxygen consumption of the *Onychophora, Peripatus acacioi* has been measured in a Warburg apparatus, in the dark, at 30 strokes per minute.

2. At 20°C, using individuals weighing from 175 mg up to 484 mg, the oxygen consumption varied from 0.153 to 0.063 cu.mm. per mg (wet) and hour. No clear cut relation between O_2 uptake and size, as represented by the wet weight, was observed. This was partly attributed to a varying rate of water loss during the experiments.

3. When the oxygen consumption was referred to the two thirds power of the weight (surface area) a mean value of 0.072 cu. mm. per $mg^{2/3}$ and hour was obtained, which is different from that reported by MORRISON (1946) for Barro Colorado's *Epiperipatus* at 25°C (0.200). MORRISON's claim that from the respiratory point of view, Onychophores are closer to Arthropods than to earthworms is discussed and not confirmed.

4. Variation in temperature definitely affected the oxygen uptake of *Peripatus*. The respiratory rate at 10°C was reduced to 40% of that at 20°C and at 30°C it was 2.45 times that measured at 20°C.

[8] In connection with this question it is perhaps interesting to mention that EWER & VAN DEN BERG (*l.c.*) in their drug study of the dorsal longitudinal muscle of *Peripatopsis* also found that this structure has an annelidan rather than an arthropod character.

5. When the animals were submitted to oxygen tensions lower than 21% the O_2 uptake was significantly diminished from 10% downwards. When exposed to a sudden change of oxygen tension (air to 2.5%) the rate was also significantly depressed. On the contrary, no return to the air tension level was observed when suddenly the O_2 tension was changed from 5 or 2.5% to air.

6. The fact that, in spite of being analogous to non ventilating insects, our Onychophores did not show their wide range of independence of the oxygen tension, is interpreted as a predominance in Onychophores of cutaneous respiration (absent in true Tracheata) over tracheal. This would place Onychophores closer to earthworms, where it has also been reported a similar dependence of the oxygen tension.

SUMÁRIO

1. O consumo de oxigênio do onicóforo *Peripatus acacioi* foi medido em um aparêlho de Warburg, no escuro, a 30 oscilações dos frascos por minuto.

2. A 20°C, usando-se indivíduos pesando de 175 mg a 484 mg, o consumo de oxigênio variou de 0,153 a 0,063 mm^3 por mg (úmida) e hora. Não se observou nítida relação entre o consumo de oxigênio e o tamanho, representado pelo pêso úmido. Isso foi parcialmente atribuido a uma taxa variável de perda d'água durante os experimentos.

3. Quando o consumo de oxigênio foi expresso em função da potência 2/3 do pêso (área superficial) um valor médio de 0,072 mm^3 de O_2 per $mg^{2/3}$ e hora foi obtido. Êle difere do relatado por Morrison (1946) para o *Epiperipatus* de Barro Colorado (Panamá) a 25°C, ou seja, 0,200. Assim, a alegação dêsse autor de que, do ponto de vista respiratório, onicóforos sejam mais vizinhos dos artrópodos do que dos anelídeos não se confirmou.

4. Variações de temperatura decididamente afetam o consumo de oxigênio de *Peripatus*. A taxa respiratória a 10° reduziu-se a 40% da a 20°C e a 30°C foi 2,45 vêzes maior que a medida a 20°C.

5. Quando os animais foram submetidos a tensões de oxigênio abaixo da atmosférica, o consumo diminuiu significativamente a partir de 10% O_2 (ca. 70,2 mm Hg). Quando expostos a súbita mudança de tensão (ar para 2,5%) a taxa também diminuiu significativamente. Pelo contrário, não se observou retorno ao nível atmosférico quando subitamente se passou de 5 ou 2,5% de O_2 para o ar.

6. O fato de, a despeito de serem análogos a insetos "não ventiladores", não terem os nossos Onicóforos exibido uma ampla gama de independência relativamente à tensão de oxigênio, é interpretado como uma predominância nesses protraqueados da respiração cutânea (ausente nos verdadeiros traqueados) sôbre a traqueal. Isso colocaria os Onicóforos mais vizinhos aos oligoquetos terrestres (minhocas), onde também se tem verificado dependência semelhante quanto à tensão de oxigênio.

REFERENCES

Bursell, E. & Ewer, D. W., 1950, On the reactions to humidity of *Peripatopsis moseleyi* (Wood-Mason). *J. Exp. Biol.*, 26: 335-353.

Cuenot, L., 1949, *Les Onychophores. In* P. Grassé, *Traité de Zoologie*, 6: 3-37.

Dodds, S. E. & Ewer, D. W., 1952, On the rate of water loss of *Peripatopsis moseleyi* (Wood Mason). *Ann. Natal Mus.*, 12: 275-278.

Edwards, G. A., 1953, Respiratory Mechanisms. *In* K. D. Roeder, *Insect Physiology*, 55-95.

Ewer, D. W. & Van den Berg, R., 1954, A note on the pharmacology of the dorsal musculature of *Peripatopsis*. *J. Exp. Biol.*, 31: 497-500.

Heatley, N. G., 1936, The digestive enzymes of the Onychophora (*Peripatopsis spp*). *J. Exp. Biol.*, 13: 329-343.

Johnson, M. L., 1942, The respiratory function of the haemoglobin of the earthworm. *J. Exp. Biol.*, 18: 266-277.

Krogh, A., 1916, *The respiratory exchange of animals and man*. 173 pp., London, Longmans, Green and Co.

Manton, S. M., 1937, Studies on the Onychophora. II. The feeding, digestion, excretion and food storage of *Peripatopsis*. *Philos. Tr. R. Soc. London*, B. 227: 411-464.

Manton, S. M. & Ramsey, J. A., 1937, Studies on the Onychophora. III. The control of water loss in *Peripatopsis J. Exp. Biol.*, 14:470-472.

Marcus, E. & Marcus, E., 1955, A new *Peripatus* from Minas Gerais, Brazil. *An. Acad. Bras. Cien.*, 27: 189-193.

Mendes, E. G., 1951, Metabolismo respiratorio de Isópodos Terrestres. *Ciência & Cultura*, 3: 269-270.

Mendes, E. G. & Valente, D., 1953, The respiratory metabolism of tropical earthworms. I. The respiratory rate and the action of carbon monoxide at normal oxygen pressure. *Bol. Fac. Fil. Ci. Letr. Univ. S. Paulo, Zool.* 18:91-102.

Morrison, P. R., 1946, Physiological observations on water loss and oxygen consumption in Peripatus. *Biol. Bull.*, 91: 181-188.

Snodgrass, R. E., 1938, Evolution of Annelida, Onychophora, and Arthropoda. *Smithsonian Misc. Coll.*, 97: 1-159.

Wigglesworth, V. B., 1935, The regulation of respiration in the flea, *Xenopsylla cheopis*, Roths. (Pulicidae). *Proc. R. Soc. London, B.* 118: 397-411.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 143-153
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

TOXOPLASMOSE OU DOENÇA DE JANKO E MAGARINOS TORRES [1]

CESAR PINTO
Faculdade de Medicina, Uberaba, Minas Gerais

(Com 10 figuras no texto)

No presente trabalho experimental sôbre Toxoplasmose por *Toxoplasma gondii* (Nicolle et Manceaux, 1908) apresentamos as conclusões de um estudo comparativo das lesões ocasionadas por êsse protozoário e as alterações histopatológicas produzidas por agentes etiológicos de outras parasitoses afins, tais como a Pneumocistiose por *Pneumocystis carinii* Delanoe, 1912, e a Tripanosomiasis cruzi por *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909.

Também referimos as lesões ocasionadas no homem pelo *Pneumocystis carinii* e pelo *Toxoplasma gondii* nos pulmões e no cérebro de recém-nascido.

Para o *Toxoplasma gondii* propuzemos, em colaboração com Roberto Monteiro Silva (1955), o seguinte novo sistema:

Ordem *Toxoplasmidea* Pinto et Silva, 1955 *in* Pinto, 1955

Protozoários sem espóros no seu ciclo evolutivo, sem aparêlho locomotor especial, com movimentos muito lentos, gregariniformes.

Multiplicação por divisão binária, sendo os parasitos aglomerados em *ninhos*, sem membrana própria, invadindo as células de diversos órgãos e tecidos, inclusive o sangue, sendo eliminados nas fezes.

Transmissão por ingestão ou através das mucosas, raramente pela picada de hematófagos.

Familia *Toxoplasmidae* Pinto et Silva, 1955 *in* Pinto, 1955

Com as características da ordem. Sem espóros do tipo das Eimeridias.

Gênero tipo: *Toxoplasma* Nicolle et Manceaux, 1909.

---

[1] Recebido para publicação a 17 de janeiro de 1958.

Trabalho feito com auxílio de uma Bolsa concedida pelo Conselho Nacional de Pesquisas, Rio de Janeiro.

Para o *Pneumocystis carinii* Delanoe, 1912, cuja posição sistemática é ainda incerta, não se tendo a certeza no sentido de incluí-lo entre os Protozoários ou entre os Cogumelos, propuzemos uma nova Família, com as seguintes características:

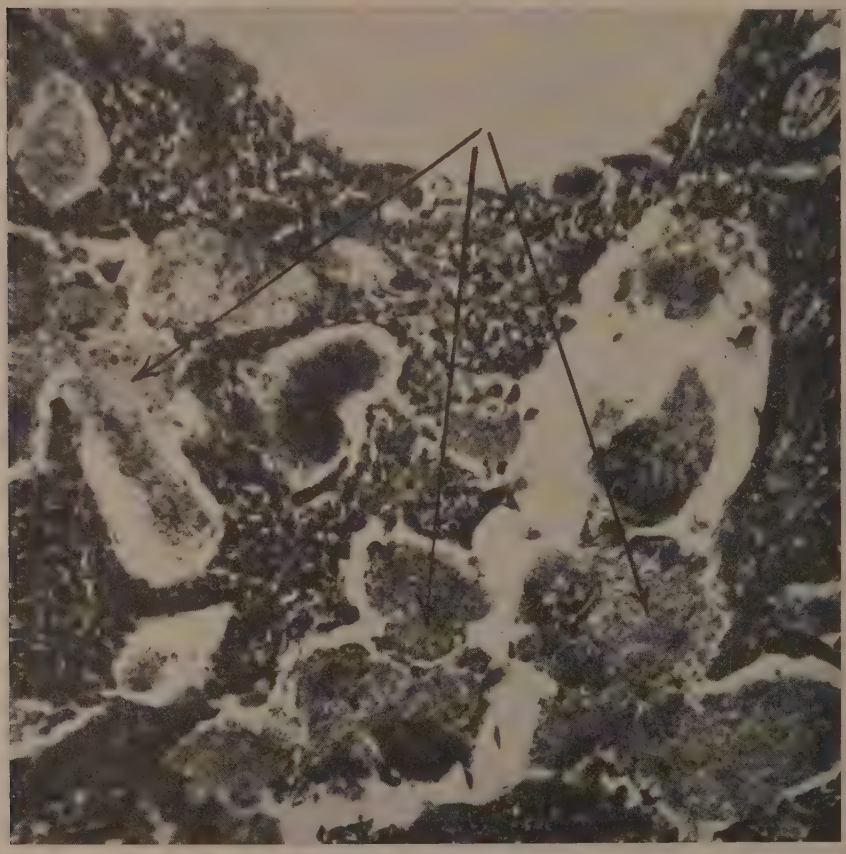


Fig. 1 — Pulmão de criança vitimada por Pneumocistiose (*Pneumocystis carinii*, indicados pelas setas). Os alvéolos pulmonares estão repletos de parasitos formando uma substância *espumosa*, aspecto que faz com que sejam confundidos com fibrina. Material enviado pelo Dr. Zandanell ao Prof. Jesuino Maciel.

Pneumocystidae Pinto, Maciel et Paraguassú, 1955 *in* Pinto, 1955

Protistas com divisão binária nas formas mononucleadas, dando origem a *massas mucóides* (fig. 1), de aspecto *espumoso*. Cistos arredondados, com 2 a 8 elementos, envolvidos por delicada membrana transparente. Transmissão possìvelmente por ingestão ou inalação dos cistos contendo 2 a 8 elementos.

Gênero tipo: *Pneumocystis* Delanoe, 1912.

Do estudo clínico e experimental que realizamos em casos humanos de pneumonia intersticial produzida pelo *Toxoplasma gondii* e da ação patogênica

do *Pneumocystis carinii,* ressalta certa semelhança entre as duas parasitoses. Essa semelhança se verifica em relação aos *portadores mamíferos* do *Toxoplasma gondii* e aos do *Pneumocystis carinii,* inclusive nas aves.

Embora a lesão predominante na pneumocistiose por *Pneumocystis carinii* seja no pulmão, verificamos, em colaboração com Jesuino Maciel (inédito) a presença dêsse curioso parasito no coração, no fígado, no baço, nas glândulas suprarrenais, no encéfalo e nos rins. Essas localizações indicam que a infecção é feita pelo sangue. Nos rins observamos o parasito sob a forma de aglomerados espumosos, em material de criança necropsiada na cidade de Viena (Austria), enviados pelo Dr. Zandanell, a quem agradecemos pela gentileza.

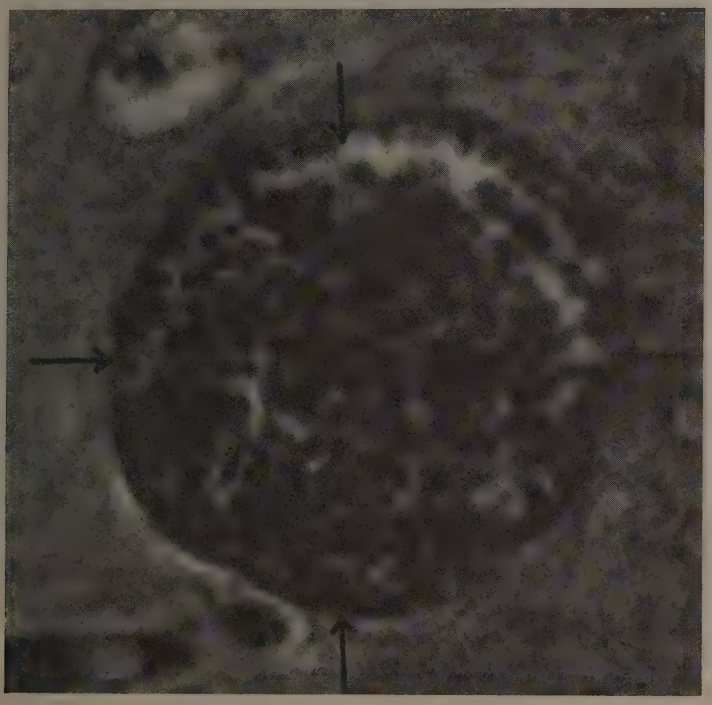


Fig. 2 — Substância cinzenta cerebral de cobáio inoculado intra-peritonialmente com *Toxoplasma gondii.* Morte em 8 dias. Vêm-se centenas de parasitos formando um *ninho* num astrócito do cérebro. Original.

O *Toxoplasma gondii* (amostra fornecida pelo Dr. Paulo Nóbrega, diretor do Inst. Biológico de S. Paulo), inoculado no peritônio de cobáio, determina a morte dêste roedor no fim de oito dias, sendo encontrado na substância cinzenta cerebral, em grande aglomerado ou *ninho* do protozoário, contido no interior de astrócito cerebral (fig. 2). À primeira vista êsse aglomerado ou *ninho* assemelha-se a um cisto, com pseudo-membrana, o que demonstra êrro de certos autores que consideram essa fase intra-celular como um verdadeiro cisto no sentido dos que existem nas Eimeridias.

Na forma aguda, mortal na criança recém-nascida, o *Toxoplasm gondii* ocasiona formidável infiltração peri-vascular no cérebro (fig. 4), sem a presença do protozoário aí, deduzindo-se que tal reação é ocasionada por uma substância altamente tóxica, provàvelmente elaborada pelo *Toxoplasma gondii*. No cobáio, entretanto, essa infiltração peri-vascular pràticamente não existe, mesmo em caso fatal.

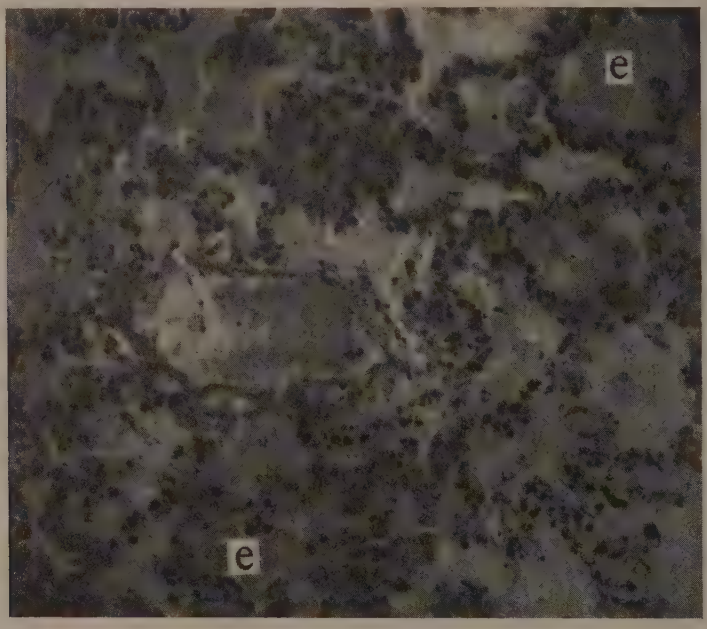


Fig. 3 — Pulmão de coelho com edema, devido a toxoplasmose por *Toxoplasma gondii*. Morte após 8 dias da inoculação intra-peritonial. Extensas áreas pulmonares com edema (e), não sendo encontrado o protozoário no pulmão, que se apresenta com hiperemia. Original.

A infiltração peri-vascular cerebral na toxoplasmose humana da criança recém-nascida é semelhante à que se observa na forma encéfalo-mielítica infantil pelo *Trypanosoma cruzi*, dando lugar a que as duas doenças, na forma cerebral, medular, possam ser confundidas. O exame minucioso, com forte aumento microscópico, dos dois tipos de granulomas nessas doenças, revela a presença dos dois protozoários contidos em astrócitos ou nas células da macróglia, que se diferenciam pela presença do blefaroplasto na forma leishmanióide do *Trypanosoma cruzi*, formação essa que não é verificada nos cortes transversais dos aglomerados ou *ninhos* do *Toxoplasma gondii*, segundo ELEJALDE & PINTO, no presente trabalho.

A toxoplasmose também possui uma forma cardíaca, com a presença do *Toxoplasma gondii* no músculo do coração, o que vem complicar o diagnóstico diferencial histo-patológico entre a toxoplasmose e a tripanosomiasis cruzi, localizada naquele órgão.

Nas lesões obtidas experimentalmente por mim numa série de 22 coelhos inoculados intra-peritonialmente com o *Toxoplasma gondii,* o cérebro é geralmente poupado, ou apresenta lesões discretas. É no fígado, no baço, nas glândulas suprarrenais, nos intestinos e, principalmente, nos pulmões que predominam as lesões graves da toxoplasmose experimental. Essas lesões são de natureza necrótica, em foco, desenvolvendo-se geralmente ao longo do vasos.

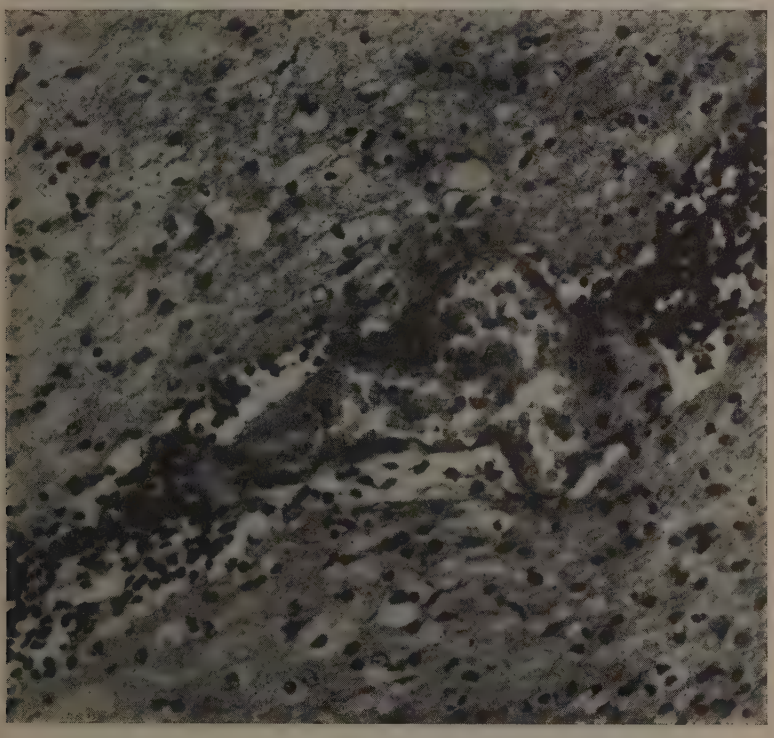


Fig. 4 — Infiltração peri-vascular no cérebro de criança recém-nascida vitimada por Toxoplasmose (*Toxoplasma gondii*), não sendo encontrado o protozoário no cérebro, porém em outros órgãos. Original.

De início há multiplicação citoplasmática do *T. gondii* que é observado nas células das paredes vasculares, com desintegração secundária delas. A morte dos coelhos sobrevem, geralmente, no oitavo dia. Nos pulmões existem áreas mais ou menos extensas, com edema que destroi o tecido alveolar (fig. 3), dando lugar á acentuada diminuição da via respiratória, traduzindo-se em pronunciada dispnéia que concorre para acelerar a morte dos roedores com toxoplasmose. Além do edema observa-se enfisema (fig. 3) e hiperemia. Êsse edema é resultante, provàvelmente, de uma toxina elaborada pelo *T. gondii,* que não é encontrado nos pulmões edemaciados, por maior que seja a lesão no tecido pulmonar atingido pelo citado protozoário. O edema é responsável pela morte do animal inoculado com o *T. gondii.*

Em colaboração com o patologista NILTON COSTA (no presente trabalho) apresentamos as lesões cerebrais da toxoplasmose humana, em recém-nascido, do Rio de Janeiro, vitimado pela forma congênita dessa doença. Baço hipertrofiado. No cérebro calcificações esparsas e a presença do *T. gondii* nas glândulas suprarrenais, mais ou menos abundante, fato evidenciado pela Dra. Aparecida

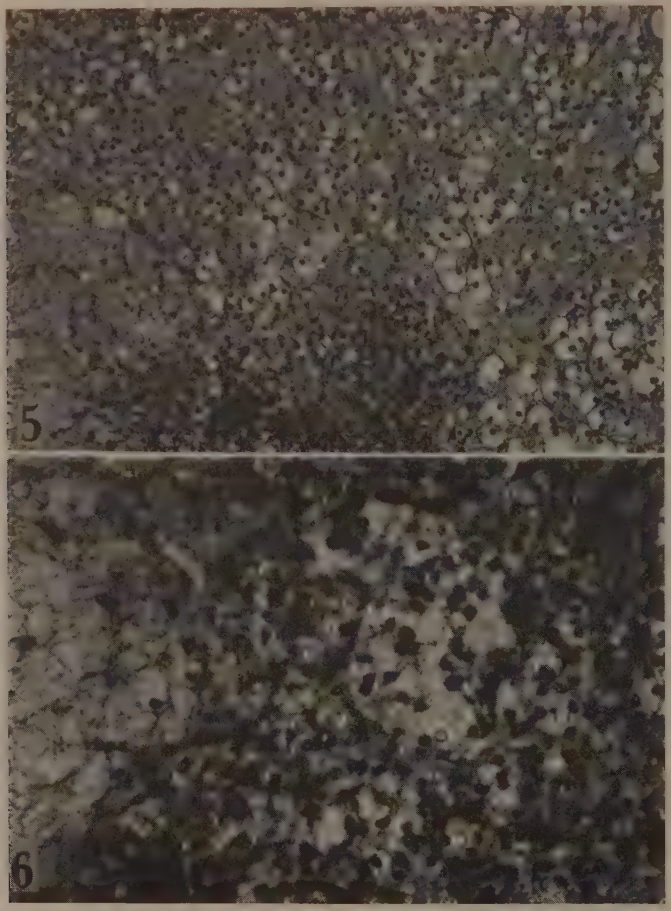


Fig. 5 — Corte de cérebro de criança recém-nascida vitimada por Toxoplasmose congênita; aspecto esponjoso ao nível da substância cerebral branca; no campo inferior há infiltração cerebral densa, cujos elementos celulares não puderam ser identificados. Fig. 6 — Aspecto ampliado da área de infiltração celular densa da fig. 5.

Garcia. Cérebro com infiltração peri-vascular intensa (fig. 4) e ausência do *T. gondii;* com aspecto esponjoso ao nivel da substância branca (fig. 5), infiltração celular densa, cujos elementos celulares não puderam ser identificados. O aspecto esponjoso cerebral talvez corra por conta de elementos celulares, provàvelmente elementos neuróglios oligodendrocíticos (fig. 7). Noutra área cerebral

havia infiltração celular densa e elementos com cromatina abundante (fig. 8). Na área sub ependimária (ventrículo) havia elementos celulares densos ou aglomerados, devido à ação toxoplásmica (fig. 9). Não foi possível encontrar o

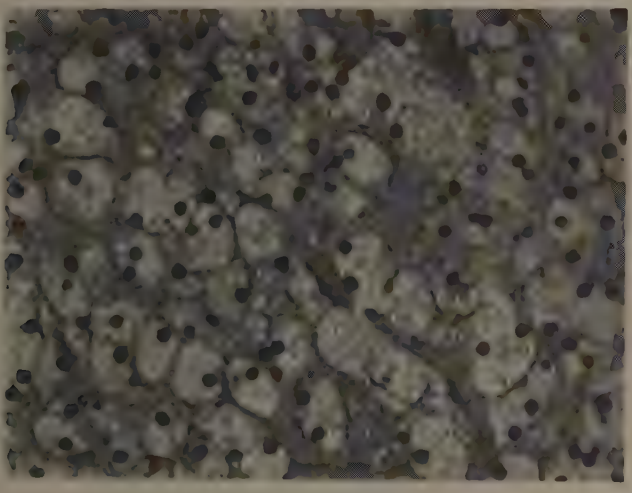


Fig. 7 — Corte de cérebro de criança recém-nascida vitimada por Toxoplasmose congênita. Aspecto esponjoso que, provavelmente, corre por conta de elementos celulares (elementos neuroglios oligodendrocíticos?). Original.

Fig. 8 — Corte de cérebro de criança recém-nascida vitimada por Toxoplasmose congênita. Área com infiltração celular densa, cujos elementos mostram cromatina abundante. Original.

T. gondii e tais alterações cerebrais devem ser motivadas por uma substância tóxica elaborada pelo protozoário.

Examinando o cérebro de rãs (*Leptodactylus ocellatus*) (fig. 10) e sapos (*Bufo marinus*) da cidade do Rio de Janeiro, em colaboração com o Dr. Alexandre Alencar, patologista do Instituto de Neurologia, verificamos a presença do *Toxoplasma gondii* em ninhos celulares cerebrais desses Anfíbios, que representam os hospedadores mais primitivos na escala zoológica, até a presente data. O estudo dessa raça neurotrópica do *T. gondii* e outras investigações prosseguem no Instituto de Neurologia pelos dois citados autores.

Fig. 9 — Corte de cérebro de criança recém-nascida vitimada por Toxoplasmose congênita. Vê-se uma área ependimária (ventrículos) com elementos celulares densos ou conglomerados. Êsse aspecto está ligado à área da afecção toxoplásmica. Original.

Estudando 300 apêndices em casos de apendicites agudas e crônicas, em adultos e crianças, visando a incidência de uma provável apendicite por *Toxoplasma gondii*, não logramos observar um só caso em que êsse protozoário fôsse encontrado no apêndice humano. Êsse material precioso foi posto à nossa disposição pelo Prof. E. Mac Clure e Dr. Nilton Fontes Vianna, do Laboratório de Anatomia patológica do Hospital Souza Aguiar, onde trabalhamos durante dois anos, em 1955 e 1956, aos quais aqui agradecemos por essa colaboração. Com êsses colegas verificamos que nos 300 casos de apendicites agudas e crônicas, 45 deles (15%) estavam parasitados sòmente por helmintos, conforme enumeramos a seguir. Não podemos afirmar com segurança si os helmintos tenham sido os responsáveis pelas apendicites, todavia registramos a presente estatistica que tem interêsse parasitológico apreciável.

Fig. 10 — Toxoplasmose espontânea encefálica da rã (*Leptodactylus ocellatus*) do Rio de Janeiro. Ninho de *Toxoplasma gondii* localizado na substância branca cerebral, tendo destruido completamente a célula parasitada, provavelmente um astrócito. Material do Dr. Alexandre Alencar. Hematoxilina de Heidenhain. Original.

Helmintos observados em 300 casos humanos de apendicites

N.º de ordem	N.º do P.C.	Homem H	Mulher M	Criança C	Parasitos no apêndice*
1	6		M		Apendicite crônica. *E. ver.* na luz
2	72	H			Apendicite crônica. *E. ver.* na luz
3	78	H			Apendicite crônica. *T. tri.* na luz
4	233				Apendicite crônica. Par. não ident.
5	237	H			Apendicite crônica. *A. lum.* na luz
6	240			C,	Apendicite crônica. Ovos de *A. lum.* e *T. tri.* na luz
7	253		M		Apendicite aguda. *T. tri.* na luz
8	254		M		Apendicite crônica. *T. tri.* na luz
9	261		M		Apendicite crônica. Ovos de *A. lum.* na luz
10	263	H			Apendicite aguda. *A. lum.* ovos na luz
11	282		M		Apendicite crônica. Ovos de *A. lum.* e *T. tri.* na luz
12	316		M		Apendicite crônica. Ovos de *A. lum.* na luz
13	369	H			Apendicite crônica. Ovos de *A. lum.* na luz
14	411		M		Apendicite crônica. *T. tri.* na luz
15	485	H			Apendicite aguda. *T. tri.* na luz
16	682			C	Apendicite crônica. *E. ver.* na luz
17	731		M		Apendicite crônica. *T. tri.* na luz
18	732		M		Apendicite crônica. *T. tri.* na luz
19	733		M		Apendicite aguda. *T. tri.* na luz
20	241		M		Apendicite crônica. *T. tri.* ovos na luz e fêmea na mucosa
21	771		M		Apendicite crônica. *E. ver.* na mucosa
22	886			C	Apendicite crônica. *E. ver.* na luz
23	866				Apendicite. *E. ver.* na mucosa
24	1410		M		Apendicite crônica. Parasito não identificado
25	1388		M		Apendicite crônica. Granuloma por ôvo de *S. mansoni*
26	1390	H			Apendicite crônica. *E. ver.* na luz

N.º de ordem	N.º do P.C.	Homem H	Mulher M	Criança C	Parasitos no apêndice*
27	918				Apendicite crônica. Na mucosa granuloma por ovos de *S. mansoni*
28	975	H	—		Apendicite crônica. *E. ver.* na luz
29	865		M		Apendicite crônica. *T. tri.* na luz
30	905		M		Apendicite crônica. Ovos de *A. lum.* na luz
31	871		M		Apendicite crônica. *T. tri.* na luz
32	929		M		Apendicite crônica. *E. ver.* na luz
33	1024			C	Apendicite crônica. Fêmeas de *A. lum.* na mucosa
34	1055				Apendicite crônica. *A. lum.* na luz
35	1060				Apendicite crônica. *T. tri.* na luz
36	1064				Apendicite crônica. *A. lum.* na luz
37	1089				Apendicite crônica. *E. ver.* na luz
38	1148				Apendicite crônica. Parasito não ident. na luz
39	1296	H			Apendicite crônica. *E. ver.* na luz
40	1474		M		Apendicite crônica. *A. lum.* na luz
41	14?				Apendicite. *A. lum.* na luz
42	1624			C	Apendicite crônica. *A. lum.* na luz
43	1759			C	Apendicite crônica. *A. lum.* e *E. ver.* na luz
44	1705		M		Apendicite crônica. *E. ver.* na mucosa
45	1506	H			Apendicite crônica. *T. tri.* na luz

* *E. ver.* = *Enterobius vermicularis*. *T. tri.* = *Trichuris trichiura*. *A. lum.* = *Ascaris lumbricoides*. *S. man.* = *Schistosoma mansoni*.

SUMÁRIO

Em 1923 o oftalmologista tcheco J. Janku, observou o primeiro caso de toxoplasmose numa criança com lesões cerebrais severas e oculares de córeo-retinite bilateral.

Em 1927 o notável patologista do Instituto Oswaldo Cruz, C. B. Magarinos Torres descreveu as lesões, em recém-nascido, que falecera de meningo-encéfalo-mielite, acompanhada de miocardite e miosite produzidas pelo *Toxoplasma gondii*.

Em homenagem a estes dois patologistas pioneiros no estudo desta doença, de grande importância mundial, propomos o nome de *Doença de Janko & Magarinos Torres* para a Toxoplasmose humana por *Toxoplasma gondii*.

Estudando a Toxoplasmose por *Toxoplasma gondii* e a Pneumocistiose por *Pneumocystis carinii* propuzemos nova Ordem: *Toxoplasmidea* e uma nova Família *Toxoplasmidae* para o *Toxoplasma gondii*.

O *Pneumocystis carinii* deve ser incluido numa nova família, *Pneumocystidae*, de incerta sede, provàvelmente um Cogumelo.

O *Pneumocystis carinii*, além do pulmão, sua sede preferencial, foi observado também no coração, no fígado, no baço, nas glândulas suprarrenais, no encéfalo e nos rins, segundo pesquisas inéditas de Jesuino Maciel e Cesar Pinto.

São descritas as lesões produzidas pelo *Toxoplasma gondii* no cérebro do cobáio e nos pulmões do coelho.

Num caso de Toxoplasmose congênita de recém-nascido na cidade do Rio de Janeiro, são descritas as alterações histo-patológicas cerebrais, observadas por Nilton Costa e Cesar Pinto.

Em colaboração com o Dr. Alexandre Alencar, o Autor descreve a Toxoplasmose espontânea nas rãs (*Leptodactylus ocellatus*) e nos sapos (*Bufo marinus*) do Rio de Janeiro, localizando-se o *Toxoplasma gondii* na substância cinzenta do cérebro daqueles Anfíbios, em *ninhos* que destroem a célula parasitada, provàvelmente um astrócito.

Estudando 300 apêndices humanos, em casos de apendicites crônicas e agudas, encontrou em 45 (15%) deles a presença de helmintos, porém, em nenhuma delas foi observado o *Toxoplasma gondii*.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

PINTO, C., 1955,Toxoplasmose e parasitoses afins. Publ. do Conselho Nacional de Ptsquisas. *Jornal do Comercio*, Rio de Janeiro, 128, de 5 de junho de 1955, página 9.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 155-158
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

PESQUISA E CONTAGEM DE OVOS DE "PHYSALOPTERA PRAEPUTIALIS" LINSTOW, 1889 EM FEZES DE GATO [1]

HUGO ZAGO FILHO
Faculdade de Medicina, Ribeirão Prêto, São Paulo

Dada a escassez de trabalhos sôbre a eficiência dos métodos coprológicos usuais para a pesquisa de ovos de fisalopteríneos nas fezes de animais domésticos e a ausência de dados sôbre o número de ovos eliminados por fêmea e por grama de fezes, resolvemos estudar êstes dois problemas, aproveitando o material de *P. praeputialis*, parasita freqüente do estômago do gato no município de Ribeirão Prêto (Zago & Barretto, em publicação).

MATERIAL E MÉTODOS

O material a ser examinado consistia em fezes formadas, colhidas durante necrópsia, no interior do intestino grosso de gatos. Várias razões levaram-nos a não utilizar fezes espontâneamente eliminadas pelos animais para a contagem de ovos:

1) O gato, quando capturado em natureza e trazido para o laboratório, via de regra não evacua nos 2 ou 3 primeiros dias.

2) Raramente se alimenta de maneira normal nos primeiros dias e leva alguns dias para se adaptar ao novo regime.

3) Elimina helmintos adultos e não raro rompidos, muitas vêzes perdendo por completo os parasitas durante a fase de adaptação à vida em cativeiro.

Em conseqüência disto poderíamos ter causas de êrro muito grandes nas contagens. De fato, se o gato não evacua e não se alimenta normalmente durante os primeiros dias de cativeiro, somos levados a crer que as primeiras fezes eliminadas devem mostrar maior concentração de ovos. Por outro lado, a ruptura de fêmeas durante a eliminação, com libertação de ovos contidos nos úteros, leva a uma maior concentração de ovos nas fezes. Usando fezes formadas, colhidas no interior do reto de gatos recém-capturados, pensamos obviar êstes inconvenientes.

[1] Recebido para publicação a 6 de setembro de 1957.
Trabalho do Departamento de Parasitologia (Diretor: Prof. M. P. Barretto), Faculdade de Medicina, Ribeirão Prêto, SP.

Os gatos trazidos ao laboratório eram, logo em seguida, sacrificados; as fezes formadas contidas no reto eram recolhidas em frascos de Borrel e cuidadosamente homogeneizadas. Uma parte era destinada à contagem pelo método de Stoll e outra era submetida a exames para a pesquisa de ovos, pelos seguintes métodos: direto, Faust e col. e sedimentação em água durante uma hora, segundo Hoffman, Pons e Jener. O resultado obtido pelo Stoll era referido ao número de fêmeas adultas presentes no estômago no momento da autópsia. Só tomamos em consideração fêmeas que continham ovos embrionados no seu interior e efetuavam postura em solução fisiológica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Eficiência dos métodos de exame coprológico — Fezes de 51 gatos foram examinadas pelos métodos supracitados e os resultados obtidos são apresentados no Quadro I.

QUADRO I

Resultados comparativos dos exames coprológicos em 51 gatos parasitados

Método	N.º de animais positivos	Percentagem
Direto	19	37,25
Faust e col.	21	41,17
Sedimentação	51	100,00

Êstes resultados indicam que o método da sedimentação é muito superior aos outros dois para a pesquisa de ovos da *P. praeputialis* nas fezes de gatos, revelando-se positivo em todos os casos em que o parasita foi comprovado.

Por outro lado, êstes resultados não indicam diferenças significativas entre os métodos direto e de Faust e col. Aliás, não há concordância nos resultados fornecidos por êstes dois métodos. Assim, dos 51 gatos examinados, 10 apenas mostraram-se positivos pelos dois métodos; em 11 casos o método de Faust e col. deu resultados positivos e o direto negativos; em 9 casos o método direto deu resultados positivos e o de Faust e col. negativos. Associados, os dois métodos revelaram apenas 30 casos de parasitismo, ou seja 58,8%, resultado ainda muito inferior ao obtido com o método de sedimentação.

Assim, nossos dados estão até certo ponto em desacôrdo com os de EHRENFORD (1954) que, comparando os métodos de sedimentação e flutuação em 31 cães parasitados por *Physaloptera sp.*, verificou serem êstes últimos duas a sete vêzes superiores ao da sedimentação. É verdade que aquêle autor usou como agente

de flutuação, soluções de bicromato de sódio, nitrato de sódio e açúcar, soluções estas que, com exceção da de açúcar, não experimentamos. Mas, mesmo assim, as discrepâncias são muito acentuadas.

A pequena sensibilidade do método de Faust e col. para a pesquisa de ovos da *P. praeputialis* pode ser explicada de um lado pela relativamente grande densidade dos ovos dêste helminto, que, quando colocados na solução de sulfato de zinco e centrifugados não flutuam bem. Por outro lado, condições peculiares às fezes de gato dificultam a aplicação dêste método. Elas são ricas em detritos e possuem substâncias que lhe dão côr escura e consistência viscosa. Mesmo após 5 ou 6 lavagens prévias em água, não se consegue uma suspensão clara, e, quando se adiciona a solução do sulfato de zinco, muitos detritos sobrenadam, dificultando a visualização dos ovos que flutuam, quando a película é transferida para uma lâmina. Isto se verifica nas fezes de gatos, tanto capturados em natureza quanto mantidos em laboratório com ração padronizada.

Contagem de ovos pelo método de Stoll — Fezes de 43 gatos parasitados foram submetidas à contagem pelo método de Stoll, procedendo-se sempre a 3 contagens em cada caso e expressando-se os resultados em médias. Êstes resultados são apresentados no Quadro II.

Êstes resultados indicam que o número de ovos eliminados por fêmeas e por grama de fezes variou entre 400 e 580, sendo a média 462 ± 64,94, a mediana 450 e o coeficiente de variação 14,05%.

É interessante assinalar que a distribuição dos resultados, expressos em número de ovos por fêmea e por grama de fezes, é assimétrica, havendo muito maior freqüência de fêmeas eliminando menor número de ovos. Mas como a amplitude de variação desta eliminação é pequena (CV = 14,05%), a média

QUADRO II

Resultados das contagens de ovos pelo método de Stoll em 43 gatos

Gato	Ovos por grama	N.º de fêmeas	Ovos por grama e por fêmea	Gato	Ovos por grama	N.º de fêmeas	Ovos por grama e por fêmea
1	1.800	4	450	23	500	1	500
2	800	2	400	24	3.400	8	425
3	400	1	400	25	500	1	500
4	3.700	7	518	26	1.600	3	533
5	1.300	3	433	27	1.800	4	450
6	2.700	6	450	28	2.900	7	410
7	900	2	450	29	5.800	10	580
8	900	2	450	30	2.900	6	483
9	400	1	400	31	5.200	9	577
10	800	2	400	32	800	2	400
11	4.600	9	511	33	2.200	5	444
12	2.400	5	480	34	2.800	5	560
13	8.300	16	519	35	3.600	7	510
14	2.900	7	414	36	2.400	6	400
15	400	1	400	37	10.700	19	562
16	2.100	4	525	38	1.200	3	400
17	800	2	400	39	5.500	11	500
18	1.100	2	550	40	5.700	10	570
19	400	1	400	41	900	2	450
20	800	2	400	42	400	1	400
21	1.900	4	475	43	3.600	9	400
22	400	1	400				

não é muito afetada pelos valores extremos e fica próxima da mediana. Assim sendo, a média do número de ovos por fêmea e por grama de fezes representa bem o fenômeno e pode ser usada para o cálculo da intensidade de infestação quando se quiser comparar resultados.

SUMÁRIO

No presente trabalho relatam-se resultados obtidos no estudo da eficiência dos métodos direto, de Faust e col. e de sedimentação em água para o diagnóstico da infestação de gatos pela *P. praeputialis* Linstow, 1889. Usando-se os três métodos em 51 animais verificou-se que a sedimentação revela 100%, o exame direto 37,25% e o método de Faust e col. 41,17% dos casos. Associados, os dois últimos métodos revelaram apenas 58,8% dos casos. Conclui-se que a sedimentação é o processo de escolha.

Por outro lado, procurou-se determinar o número de ovos eliminados por fêmea e por grama de fezes, usando-se o método de Stoll em 43 animais e obtiveram-se resultados variáveis de 400 a 580 ovos, com a média 462 ± 64,94, mediana 450 e coeficiente de variação 14,05%.

SUMMARY

Results obtained in a comparison of the efficiency of three techniques of stool examination for the diagnosis of *Physaloptera*-infestation in cats are reported. In 51 infested animals the following positive results were obtained: direct stool examination 37.25%, zinc sulphate centrifugal floatation 41.16%, and sedimentation in tap water 100%.

The Stoll's egg-counting technique showed that the number of eggs per female and per gram of faeces in 43 cats varies from 400 to 580, with mean 462 ± 64.94, median 450, and variation coeficient 14.05 per cent.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ehrenford, F. A., 1954, Diagnosis of *Physaloptera* in dogs by stool examination. *J. Parasitol.*, 40 (5), Sect. 2: 16.

Zago Filho, H. & Barretto, M. P., Estudo sôbre a prevalência e intensidade de infestação por helmintos intestinais em cães e gatos de Ribeirão Prêto, SP. Em publicação.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 159-165
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

ALGUNS NEMATÓDEOS DO TOMATEIRO [1]

LUIZ GONZAGA E. LORDELLO e R. CESNIK
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, S. Paulo

(Com 7 figuras no texto)

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) constitui uma das plantas mais mencionadas na literatura nematológica estrangeira pela sua susceptibilidade a diversos nematódeos parasitos das raízes, dentre os quais se incluem os agentes das "galhas" (*Meloidogyne* spp.), o "nematódeo dourado" (*Heterodera rostochiensis* Woll.), várias espécies de *Pratylenchus*, nematódeos em espiral (*Helicotylenchus* spp. e *Rotylenchus* spp.) e outros, podendo também as fôlhas e frutos encerrar diferentes formas.

Doolittle (1948), em seu conhecido trabalho sôbre "Tomato diseases", apresenta parecer de Steiner sôbre o assunto, o qual inclui recomendações para o contrôle.

No Brasil, pràticamente ainda nada se publicou sôbre a questão. Considerando a importância do problema e a pobreza da nossa literatura, damos publicação às presentes notas sôbre a fauna nematológica do tomateiro. Trata-se de enumeração de algumas formas verificadas parasitando o sistema radicular das plantas examinadas ou a êle associadas, proliferando no solo que o circundava, podendo ser referidas como espécies suspeitas.

MATERIAL E MÉTODOS

As plantas estudadas foram coletadas em Piracicaba, Estado de S. Paulo, tendo, tôdas elas sido acompanhadas de pequena porção de solo coligido ao redor das raízes. As espécies endoparasitas foram obtidas pela dissecação direta do material, ao microscópio entomológico, ou pela sua dilaceração num liquidificador. Os indivíduos que ocorriam no solo foram obtidos segundo o método do funil de Baermann.

Foram preparadas lâminas temporárias das várias espécies, em solução de formalina a 6%. As fêmeas de *Meloidogyne* destinadas ao estudo da configura-

[1] Recebido para publicação a 23 de novembro de 1957.

ção da região perineal, foram montadas em lactofenol, segundo a fórmula seguinte: fenol fundido — 3 partes; glicerina — 2 pts.; ácido lático — 1 pt.; água — 1 parte.

RELAÇÃO DOS NEMATÓDEOS PARASITOS OU SUSPEITOS DE PARASITISMO

a) *Helicotylenchus nannus* Steiner, 1945 — Trata-se, por certo, do nematódeo espiralado mais freqüente no Estado de S. Paulo. Uma fêmea da população ora estudada apresentou as seguintes dimensões (em micros): comprimento total — 625,8; largura — 29,1; estilete — 26,0; distância do orifício de abertura da glândula esofagiana dorsal aos bulbos do estilete — 10,7; distância da cabeça à vulva — 405,5; cauda — 13,8; a = 21,5; b = 6,5; c = 44,8; V = 64,5%.

Machos não foram encontrados. Aliás, o macho de *H. nannus* foi sòmente recentemente descrito por Carvalho (1956).

b) *Rotylenchus* sp. — A identificação dêste nematódeo será realizada oportunamente. Estamos informados de que nematologistas europeus irão demonstrar a identidade dos gêneros *Rotylenchus* Filipjev, 1934, e *Hoplolaimus* von Daday, 1905.

c) *Spirotylenchus queirozi* g. n., sp. n. — Damos, linhas adiante, a descrição dêsse novo *Tylenchidae*.

d) *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 — O nematódeo javanês, já verificado atacando numerosas outras plantas de interêsse econômico, é agora assinalado parasitando o tomateiro. As configurações das regiões perineais concordaram plenamente com aquelas publicadas por Chitwood (1949), Taylor, Dropkin & Martin (1955) e outros autores.

e) *Meloidogyne* sp., do grupo de *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 — Não tendo sido possível obter siquer um macho dêste nematódeo, não pudemos concluir a identificação. O estudo de várias fêmeas permitiu-nos colocá-lo no grupo de *M. incognita*, por ser a perineal grosseiramente oval e provida de arco alto e mal formado. Ao longo das linhas laterais, notava-se forte tendência para a formação de bifurcações ("forkings") nas uniões das estrias dorsais e ventrais.

Conforme tem sido registrado por vários autores (Sasser, 1954; Dropkin, 1953), numa mesma espécie de *Meloidogyne* ocorrem variações na configuração perineal. Há mesmo possibilidade das formas extremas serem errôneamente interpretadas como pertencentes a espécie diferente (Allen, 1952).

Na presente população de *Meloidogyne* sp., a variação mais interessante consistiu na formação de "asas" unilaterais. As "asas", como se sabe, resultam do fato das estrias se estenderem para os lados da perineal. Parece-nos que "asas" em configuração perineal de *Meloidogyne* do grupo de *M. inognita* são agora constatadas pela primeira vez. No material estudado, a percentagem de fêmeas portadoras de asas perineais andou ao redor de 20%.

As "galhas" resultantes da infestação pelas duas espécies de *Meloidogyne* aqui tratadas mostraram diâmetro valendo 1,5-3,5 vêzes o diâmetro normal da raíz. Algumas galhas mostraram fendilhamentos ("crackings"), através dos quais as fêmeas maduras expeliam as ootecas para o exterior. Dessa forma, a raíz parasitada deixava ver pequenas manchas pardacentas, correspondentes aos pontos onde as fêmeas se alojavam. Parasitismo semelhante já foi verificado em outras plantas (Lordello, 1956; Lordello & Arruda, 1956; Cesnik, 1957) sendo, aliás, considerado como dos mais nocivos.

f) *Dorylaimus krygeri* Ditlevsen, 1928 — Nematódeo comum ao redor do sistema radicular de diversas plantas, sendo suspeito como capaz de danificar os tecidos (Lordello, 1956a).

g) *Xiphinema* sp. — Não tendo sido obtidos adultos dêste *Dorylaimidae*, a determinação específica tornou-se impossível.

Spyrotylenchus g. n.

Tylenchida, Tylenchidae, Hoplolaiminae.

Pequenos nematódeos que, quando mortos, enrolam-se assumindo a forma de uma espiral. Cutícula anelada. Campos laterais com 4 riscas paralelas sendo, pois, divididos em 3 faixas. *Phasmids* punctiformes, localizados na cauda. Cabeça em forma de cúpula, anelada. Estilete com menos de 20μ, mais desenvolvido nas fêmeas do que nos machos. Distância do orifício do conduto da glândula esofagiana dorsal aos bulbos do estilete valendo 90-100% do comprimento total do estilete. Junção esôfago-intestinal indistinta; esôfago desprovido de bulbo terminal; glândulas esofagianas recobrindo a porção inicial do intestino.

Aparêlho reprodutor da fêmea anfidélfico. Machos com *bursa* vestigial, espículos tipo tilencóide, gubernáculo simples.

Nematódeos do solo, possìvelmente vivendo como ectoparasitos de raízes e outros órgãos vegetais subterrâneos.

O gênero distingue-se de *Helicotylenchus* Steiner, 1945, pela posição dos *phasmids* que, nos dois sexos, se localiza na região caudal, bem ainda pela inexistência, nos machos, de *bursa* normalmente desenvolvida, mas sim de vestígios (Golden, 1956).

Genótipo: *Spirotylenchus queirozi* sp. n.

Spirotylenchus queirozi sp. n.

Machos — Os exemplares mortos ou fixados enrolam-se, constituindo uma espiral mais ou menos aberta. Corpo afilando-se para as extremidades. Cabeça contínua ao contôrno do corpo, isto é, desprovida de qualquer depressão separatória. Anéis cefálicos muito delicados, dificilmente visíveis. As papilas cefálicas e cervicais, bem como os *amphids*, não puderam ser vistos.

Cutícula delicadamente anelada; campos laterais formados por 4 linhas paralelas, estendendo-se da região esofagiana ao extremo caudal. Ao nível do meio corpo, as linhas externas dos campos distam 3,0-3,9μ entre si, representando de 1/5 a 1/4 da largura do corpo. Nenhuma observação pôde ser feita com respeito às estrias da cutícula na região esofagiana, em relação aos campos.

Estilete mais fraco que o das fêmeas, provido de bulbos basais menos desenvolvidos; glândulas esofagianas bem definidas, o seu limite inferior distando cêrca de 112μ da frente da cabeça. O orifício de abertura do conduto da glândula dorsal dista cêrca de 13,8μ dos bulbos do estilete. Tal distância representa mais de 90% do comprimento total do estilete.

Bulbo do esôfago elipsóide, medindo aproximadamente 9,2 x 6,0μ, provido de válvulas pouco desenvolvidas. Células intestinais tomadas de grânulos mais ou menos escuros, de diferentes diâmetros. Ânus localizado em uma elevação.

Espículos arqueados, gubernáculo bem definido, curvo; um único testículo. A *bursa* é representada por uma membrana pouco visível, a qual não compreende a totalidade da cauda. Trata-se de bursa rudimentar e em processo de desaparecimento, semelhante à do macho de *Rotylenchus melancholicus* Lordello, 1955.

Phasmids bem definidos, punctiformes, localizados pouco adiante do nível do meio da cauda. Cauda afilada e curva.

Fêmeas — Os exemplares mortos naturalmente ou pelo fixador assumem a forma de uma espiral um tanto aberta. Corpo atenuando-se para as duas extremidades, máxime para a posterior, resultando um extremo caudal afilado e curvo. Cabeça não separada do corpo por qualquer depressão, ostentando 4 anéis pós-labiais.

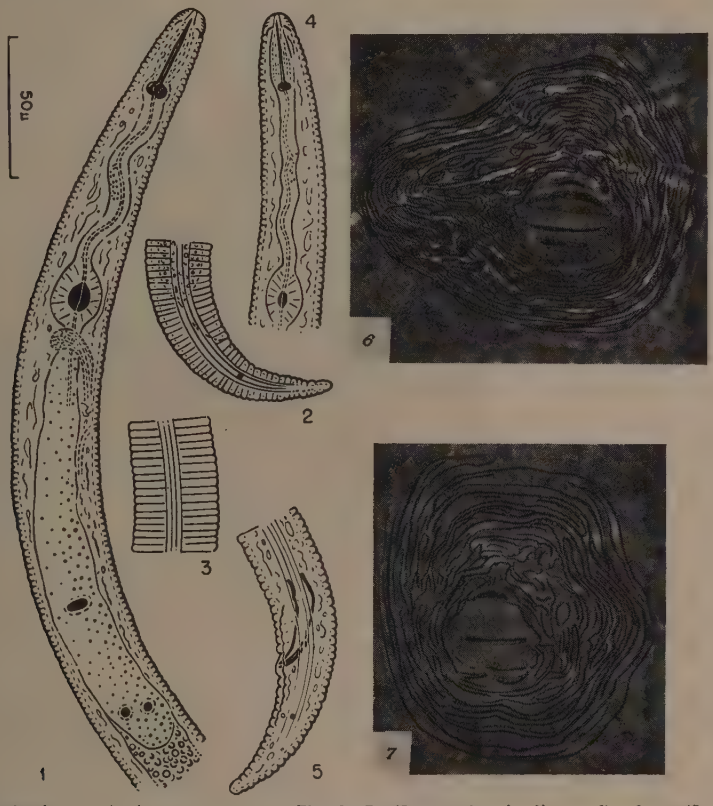
Cutícula fortemente anelada; anéis convexos. Campos laterais dados por 4 riscas paralelas, estendendo-se da região esofagiana à cauda. Ao nível da vulva, as estrias externas dos campos distam, entre si, de 3,0 a 3,8μ, perfazendo cêrca de 1/5 da largura do corpo. As papilas cervicais e cefálicas, bem como os *amphids* não puderam ser localizados.

Estilete forte, às vêzes se apresentando levemente curvo, outras vêzes perfeitamente direito. Bulbos do estilete bem desenvolvidos. Paredes do vestíbulo pouco engrossadas. Bulbo esofagiano elipsóide, provido de válvulas bem definidas, musculoso, medindo 12,3-13,8 x 7,6-9,2 μ.

Glândulas esofagianas recobrindo a porção inicial do intestino, ora num só corpo, ora lobuladas; o seu limite inferior dista 143,8-155,0μ da frente da cabeça. O orifício do conduto da glândula dorsal, dista de 16,9 a 18,3μ dos bulbos do estilete. Tais valores representam de 90 a 100% do comprimento total do estilete. Aliás, a distância referida é de difícil avaliação, pelo fato do canal do esôfago raras vêzes se apresentar razoàvelmente direito, em indivíduos fixados.

Intestino opaco; células intestinais tomadas de grânulos de vários tamanhos, escuros, dificultando estudo acurado dos órgãos reprodutores. Ânus freqüentemente obscuro.

S. queirozi possui dois ovários; receptáculo seminal aparentemente ausente. Vagina estendendo-se pelo corpo por mais da metade de sua largura. Nenhum ôvo foi visto no útero.



Spirotylenchus queirozi g. n., sp. n. — Fig. 1: Região anterior da fêmea; fig. 2: região caudal da fêmea; fig. 3: campo lateral; fig. 4: região anterior do macho; fig. 5: cauda do macho. Figs. 6 e 7 — Configuração da região perineal de fêmeas maduras de *Meloidogyne* sp.

Phasmids localizados um pouco adiante do nível médio caudal.

Medidas (em μ) — Macho: comprimento total = 390,0-415,0; largura = 15,3; estilete = 13,8; cauda = 21,4-23,0; diâmetro anal = 9,2-10,7; espículos = 16,9-18,4; gubernáculo = 7,7-8,4; a = 25,4-27,1; b = 4,1-4,5; c = 18,0-18,2. Fêmea: comprimento total = 384,1-422,3; largura = 13,8-15,3; estilete = 18,3-18,4; cauda = 24,5-26,0; diâmetro anal = 9,2; a = 26,1-27,8; b = 3,7-4,0; c = 15,3-16,2; V = 70,9-73,2%.

Dimorfismo sexual — Existe curioso dimorfismo sexual no estilete que, nos machos, além de mais curto, é mais fino e possui bulbos visivelmente menos desenvolvidos. Outra característica dos machos reside nas válvulas do bulbo esofagiano, as quais, neste sexo, estão longe de apresentar o desenvolvimento das válvulas das fêmeas.

Finalmente, salientamos que, nos machos, o ânus se localiza em uma elevação, enquanto que nas fêmeas êle se apresenta, às vêzes, de localização difícil, faltando a eminência presente no outro sexo. Nas fêmeas, o ânus é quase sempre divisado pela inconspícua linha retal. Mortos, os machos assumem a forma de espiral mais fechada que aquela formada pelas fêmeas.

Localidade típica: Piracicaba, Estado de S. Paulo, de amostras de solo colhidas ao redor do sistema radicular de tomateiros.

O nome específico é dado em homenagem póstuma a Luiz Vicente de Souza Queiroz, patrono da Escola Superior de Agricultura da Universidade de S. Paulo. Os tipos da espécie encontram-se na coleção dos autores.

SUMMARY

Roots of tomato plants collected at Piracicaba, State of S. Paulo, Brazil, were found attacked by the javanese root-knot nematode (*Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949) and by another *Meloidogyne* species belonging to the *M. incognita* group.

In the latter root-knot nematode, the most interesting feature concerning the female perineal pattern consisted of wings on one side of the pattern, a variation hitherto unrecorded for the *incognita* group.

The soil surrounding the roots of the plants examined harboured a few ectoparasitic forms or suspected as such. These are: *Helicotylenchus nannus* Steiner, 1945; *Rotylenchus* sp.; *Spirotylenchus queirozi* g. n. sp. n.; *Xiphinema* sp., and *Dorylaimus krygeri* Ditlevsen, 1928.

Spirotylenchus g. n. closely resembles the genus *Helicotylenchus* Steiner, 1945, from which it differs in having: a) phasmids in both sexes located on tail region; and, b) males with a vestigial bursa, which does not comprise all the tail.

LITERATURA CITADA

Allen, M. A., 1952, Observations on the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. *Proc. helminth. Soc. Wash.*, 19 (1): 44-51, 2 figs.

Carvalho, J. C., 1956, *Helicotylenchus nannus* (descrição do macho) e *Rotylenchus iperoiguensis* n. sp. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 16: 136-141, 2 ests.

Cesnik, R., 1957, Dois nematódeos parasitando *Tropaeolum majus* L. *Rev. Agric. S. Paulo*, 32 (4): 253-260, 1 fig.

Chitwood, B. G., 1949, "Root-knot nematodes" — part I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. *Proc. helminth. Soc. Wash.*, 16 (2): 90-104, 6 ests.

Doolittle, S. P., 1948, *Tomato diseases*, 83 pp., 48 figs., U. S. Dept. of Agriculture ed., Farmers'Bull. 1934.

Dropkin, V. H., 1953, Studies on the variability of anal plate patterns of pure lines of *Meloidogyne* spp., the root-knot nematode. *Proc. helminth. Soc. Wash.*, 20 (1): 32-39, 4 figs.

GOLDEN, A. M., 1956, *Taxonomy of the spiral nematodes (Rotylenchus and Helicotylenchus), and the developmental stages and host-parasite relationships of R. buxophilus, n. sp., attacking boxwood*, 28 pp., 17 figs., Univ. of Maryland, Coll. of Agric., ed., Bull. A-85.

LORDELLO, L. G. E., 1955, A new nematode, *Rotylenchus melancholicus* n. sp., found associated with grass roots, and its sexual dimorphism. *J. Wash. Acad. Sci.*, 45 (3): 81-83, 1 est.

LORDELLO, L. G. E., 1956, Parasitismo de *Meloidogyne javanica* em raízes de aboboreira (*Nematoda, Heteroderidae*). *Rev. Agric. S. Paulo*, 31 (3): 135-138, 1 fig.

LORDELLO, L. G. E., 1956a, A redescription of *Dorylaimus krygeri* Ditlevsen, 1928, from Brazil (*Nematoda, Dorylaimidae*). *Rev. Brasil. Biol.*, 16 (2): 163-165, 3 figs.

LORDELLO, L. G. E. & ARRUDA, H. V., 1956, Nematódeos parasitando guandu. *Bragantia*, 15: V-VII, 1 est.

SASSER, J. N., 1954, *Identification and host-parasite relationships of certain root-knot nematodes*, 30 pp., 12 figs., Univ. of Maryland, Coll. of Agric., ed., Bull. A-77.

STEINER, G., 1945, *Helicotylenchus*, a new genus of plant-parasitic nematodes and its relationship to *Rotylenchus* Filipjev. *Proc. helminth. Soc. Wash.*, 12 (2): 34-38, 1 est.

TAYLOR, A. L., DROPKIN, V. H. & MARTIN, G. C., 1955, Perineal patterns of root-knot nematodes. *Phytopathology*, 45 (1):26-34, 7 ests.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 167-169
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DO GÊNERO "DIMECOENIA" CRESSON, 1916. IV. Descrição da larva e do pupário de "Dimecoenia grumanni" Oliveira, 1954 (Diptera, Ephydridae)[1]

S. J. DE OLIVEIRA
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 5 figuras no texto)

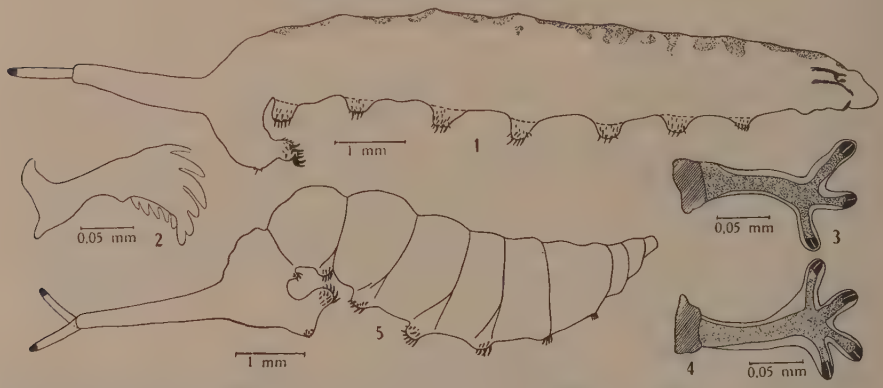
Em 1954 descrevemos os adultos de *Dimecoenia grumanni* que tinham sido colecionados "acima da tona d'água e sôbre algas existentes em depressões da rocha", na cidade marítima de Tôrres, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Naquela ocasião diziamos ser "quase certo, que suas larvas e pupas se desenvolvam na água salgada". Isto é agora confirmado, graças ao Prof. Eugênio Grumann, que conseguiu encontrar, próximo ao local onde, em 1950, colecionou os adultos, grande número de larvas e pupários desta espécie, cujas descrições constituem o objeto desta nota.

Dimecoenia grumanni Oliveira, 1954:272-276, figs. 6-10:

Larva (3.º estádio) (figs. 1-4) — Amarelada, com o tegumento recoberto de dois tipos de espinhos castanhos: uns finos, curtos, em todo o corpo, exceto nos dois ramos da forquilha do tubo respiratório, outros curtos, chatos, de ponta romba, parecendo escamas, esparsas nas regiões laterais e numerosos na região dorsal, onde são agrupados em pequenos "mosaicos", que juntos, formam verdadeiras placas em cada segmento do corpo, constituíndo, o conjunto um desenho simétrico ao longo da larva. Do I ao VII segmentos abdominais existe um par de falsos-pés, o do I segmento tem 2 fileiras de espinhos, castanho-claros na base e castanho-escuros no ápice, curvos, longos; cada fileira possui 5 espinhos; os da 1.ª fileira são maiores que os da 2.ª; os espinhos internos são maiores que os externos; há uma 3.ª fileira, cujos espinhos têm cêrca de 1/20 do tamanho dos espinhos da 1.ª fileira e quase do tamanho dos espinhos finos que recobrem o tegumento. Os falsos-pés dos II-VII segmentos têm 3 fileiras de es-

[1] Recebido para publicação a 30 de dezembro de 1957.
Apresentado na IX Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Rio de Janeiro, 8-13 de julho de 1957.

pinhos castanho-claros na base e castanho escuros no ápice, bastante curvos, fortes, com o aspecto de uma garra; os da fileira apical, em número de 5, são os mais robustos; os da 2.ª fileira são também em número de 5; os da 3.ª fileira são apenas em número de 3, são pouco curvos e têm cêrca de 1/5 do tamanho dos da 1.ª fileira; além dêsses, há outros espinhos, não visivelmente agrupados em fileiras, que vão diminuindo de tamanho, mas aumentando em número, até se confundirem com os espinhos finos que recobrem o tegumento. O VIII segmento possui um falso-pé longo, ímpar, embora seja visível que houve fusão de 2 falsos-pés, com 4 fileiras de espinhos, cada uma delas com 10 espinhos, maiores que os seus homólogos dos falsos-pés anteriores; os espinhos internos são bem maiores que os externos; e os das fileiras anteriores são maiores que os das posteriores; depois da 4.ª fileira, há outros espinhos, não visìvelmente agrupados em fileiras, que diminuem de tamanho, mas aumentam em número, até se confundirem com os espinhos finos que recobrem o tegumento; na parte posterior do 8.º falso-pé há, de cada lado, um pequeno lóbo, com 3 fileiras de espi-



Dimecoenia grumanni Oliveira, 1954 — Fig. 1: Larva n.º 833, vista lateral; fig. 2: esclerito labial da larva n.º 834; figs. 3 e 4: estigmas anteriores da larva n.º 834; fig. 5: pupário n.º 815, vista lateral. S. J. de Oliveira *del.*

nhos pequenos, curvos, castanho-claros, maiores que os da 3.ª fileira de espinhos dos falsos-pés. O falso-pé do I segmento é o menor de todos, os demais são subiguais. O VIII segmento possui ainda, o tubo respiratório, que é longo, forquilhado no seu 1/3 apical; a haste é inteiramente recoberta de espinhos finos, como no resto do tegumento; não há espinhos-escamas; os ramos da forquilha são glabros e seus ápices são castanho-escuros. O pseudo-céfalo possui, ao redor da boca, algumas escamas diferenciada, que têm, no seu bordo anterior, prolongamentos espinhosos. Um pouco atrás da boca existem várias fileiras de espinhos compridos e achatados. Armadura bucal com o esclerito labial (fig. 2) tendo 6 dentes longos no bordo superior e 5 curtos no bordo inferior; esclerito faringeal com os ramos dorsal e ventral subiguais; não fazendo parte da armadura bucal, mas auxiliando-a há vários espinhos, curvos, pretos, robustos, situados na frente do esclerito labial. Na face ventral do II segmento torácico há

uma placa, formada por espinhos pretos, perpendiculares em relação ao corpo da larva (eretos); atrás e na frente da placa, há fileiras de espinhos, mais ou menos regulares, que continuam lateralmente, sem, contudo, atingirem a face dorsal. Estigma anterior (figs. 3 e 4) pequeno, tri ou tetrafurcado (na mesma larva um pode ser trifurcado e o outro tetrafurcado).

Tamanho: 10 mm (sem o tubo respiratório); tubo respiratório: 2,5 mm.

Pupário (fig. 5) — Castanho-escuro, em tudo semelhante à larva, exceto no tamanho e forma devido à retração habitual do tegumento larval. Tamanho: 6 mm (sem o tubo respiratório); tubo respiratório: 2,5 mm.

Descritos de 38 pupários e 56 larvas colecionados "na água acumulada em depressões, cavidades, vãos, etc. na parte rochosa da Praia de Torres", Tôrres, Rio Grande do Sul, Brasil, 4-1-1956, E. Grumann col.; 20 pupários e 25 larvas na coleção da Seção de Zoologia do Instituto de Ciências Naturais, da Universidade do Rio Grande do Sul, P. Alegre; 18 pupários n.os 815 a 832 e 31 larvas n.os 833 a 863, na Coleção de Diptera do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

Os adultos que serviram para a descrição original, foram colecionados na Praia de Itapeva (3 a 5 quilômetros ao sul da Praia de Tôrres) em local com as mesmas características acima descritas.

Esta é a 4.ª entre as 14 espécies do gênero cujas larvas e pupários são conhecidos; *Dimecoenia caesia* e *D. zurcheri* tiveram suas larvas e pupários descritos em 1943 por Hennig e os de *D. lenti* foram descritos por Oliveira em 1954.

BIBLIOGRAFIA

Hennig, W., 1943, Übersecht über die bisher bekannten Metamorphosestadien der Ephydriden, mit Neubeschreibunger nach dem Material der Deutschen Limnologischen Sundaexpedition. *Arb. morph. taxon. Ent. Berlin-Dahlen*, 10 (2-3): 105-136, 2 Taf., 18 Textfigs.

Oliveira, S. J., 1954, Contribuição para o conhecimento do gênero *Dimecoenia* Cresson, 1916. *I. Dimecoenia lenti* sp. n., encontrada no Chile (Diptera, Ephydridae). *Rev. Brasil. Biol.*, 14 (2): 187-194, 19 figs.

Oliveira, S. J. 1954, Contribuição para o conhecimento do gênero *Dimecoenia* Cresson, 1916. II. Sôbre 3 espécies novas do Brasil (Diptera, Ephydridae). *Rev. Brasil. Biol.*, 14 (3): 269-278, 11 figs.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 171-174
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

BREVE NOTA SÔBRE O "DISTOMA MONAS" RUDOLPHI, 1819 (Trematoda)[1]

J. F. TEIXEIRA DE FREITAS
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com duas figuras no texto)

Em 1819 RUDOLPHI descreveu *Distoma monas,* trematódeo colhido por NATTERER no Brasil, com os seguintes caracteres:

"Depressum subovale, poris maximis, antico majore oblongo, ventrali orbiculari. Hab. — In intestinis *Amphibaenae* n. 30. Natterer in Brasilia reperit. Specimina plurima Museo Viennensi debeo tertiam circiter lineae partem longa, sextam lata, ex cinereo flava. Depressa, utrinque obtusa, mox ovalia, mox obovata, parte postica plus minus contracta, apice portico saepe retuso, vel obiter emarginato. Pori valde magni, remoti, inferi, margine tumido; anticus orbicularis. Cirrus non exsertus. Ovorum immaturorum racemi laterales, ova matura medium tenent."

Em 1845 DUJARDIN referiu-se a esta espécie, com as seguintes palavras:

"Corps gris-jaunâtre, long de 0,38 mm, déprimé, presque ovale, souvent rétus ou même échancré, ventouses très-grandes, écartées; ovaires latéraux, oeufs mûrs, reunis au milieu"

DIESING, em 1850, deu-lhe como *habitat* o intestino de *Siphonops annulatus* de acôrdo com o Catálogo do Museu de Viena, referido:

"Corpus ovale depressiusculum. Os anticum oblongum maximum. Acetabulum ore paulo minus, centrale, apertura circulari. Longit. 1'''; latit. 1/6'''."

Em 1889 STOSSICH referiu-se à espécie de RUDOLPHI da seguinte maneira:

"Lunghezza 0,7 mm. Larghezza 0,35 mm. Corpo inerme, depresso, ovale. Ventosa più piccola della boca, centrale, circolare. Bocca grande, oblunga."

Nenhum dos autores posteriores a RUDOLPHI, até 1890, teve ocasião de examinar espécimes de *D. monas,* o que só foi feito por PARONA, em 1896, que viu alguns exemplares do Museu de Berlim, dando, então, uma figura total e a seguinte descrição:

"Lunghezza del corpo 3/4 di millim.: diam. mass. 0,420. Già Rudolphi disse, e gli altri autori ripeterono, che questo verme presenta corpo subovale, depresso, con ventose ampiissime:

[1] Recebido para publicação a 13 de dezembro de 1957.

e le uova mature raccolte nel centro del corpo. La ventosa boccale misura in diametro 0,182, è orbicolare, con apertura ovale: bulbo esofageo globoso, piccolo in proporzione alla ventosa boccale, alla quale è contiguo; rami intestinali partono direttamente dal bulbo, ma non si possono seguire oltre la ventosa ventrale stante la massa delle uova. Essa è ovale e larga 0,168. L'ovario sta poco sotto la ventosa boccale; i vitellogeni sono laterali e situati alla parte anteriore del corpo. L'apertura sessuale trovasi subito dopo il bulbo esofageo ed appare coi margini frangiati. Le uova sono perfettamente ovali, di color bruno ed opercolate; lungh. 0,042; largh. 0,014."

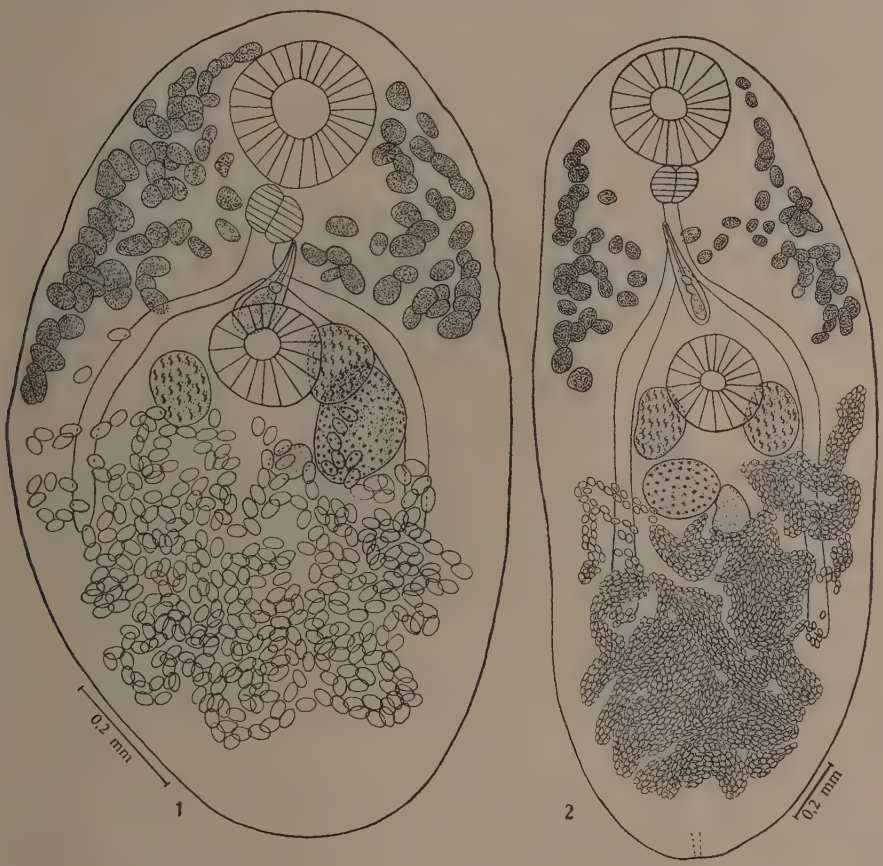
Em 1951 WALTON citou-a, dizendo, por equívoco, tratar-se de forma larvar. O encontro desta espécie em *Amphisbaena* sp., no decorrer de estudos que estamos realizando sôbre a família *Mesocoeliidae*, dá-nos, agora, oportunidade de redescrevê-la, colocando-a no gênero a que deve pertencer.

Mesocoelium monas (Rudolphi, 1819) comb. n.

Distoma monas Rudolphi, 1819, p. 679
Distoma monas Dujardin, 1845, p. 453
Distomum monas Diesing, 1850, p. 350
Distoma monas Cobbold, 1860, pp. 19,55
Distomum monas Linstow, 1878, p. 206
Distomum monas Stossich, 1889, p. 71 (12, 13)
Distomum (Brachylaimus) monas Parona, 1896, pp. 173-174, fig. 5
Distoma monas Viana, 1924, p. 135
Distoma monas Walton, 1951, p. 23

Corpo com extremidades arredondadas, medindo 1,26 a 2,41 mm de comprimento por 0,69 a 1,07 mm de maior largura. Cutícula espinhosa. Ventosa oral com 0,23 a 0,33 mm de comprimento por 0,23 a 0,36 mm de largura. Acetábulo com 0,17 a 0,28 mm de comprimento por 0,18 a 0,30 mm de largura. Pré-faringe presente, globosa, muscular, com 0,06 a 0,130 mm de comprimento por 0,100 a 0,166 mm de largura. Esôfago com 0,05 a 0,17 mm de comprimento. Cecos intestinais estendendo-se até abaixo da região equatorial do corpo. Poro enital mediano ou sub-mediano, na região esofagiana ou faringeana. Bolsa do cirro com 0,174 a 0,304 mm de comprimento por 0,061 a 0,078 mm de largura, encerra vesícula seminal bilobada, parte prostática e cirro; é pré-acetabular, podendo, entretanto, invadir a área dêste órgão. Testículos geralmente arredondados com 0,12 a 0,23 mm de comprimento por 0,10 a 0,20 mm de largura; ão situados freqüentemente na zona acetabular, ora mais para diante, ora mais para trás. Ovário mais ou menos arredondado, pós-testicular, com 0,13 a 0,25 mm e diâmetro; situa-se no campo de um dos testículos, invadindo ou não a zona acetabular. Espermateca presente, próxima ao ovário, com 0,083 a 0,166 mm de diâmetro. Glândula de Mehlis junto à espermateca. Útero com alças que ocupam a região posterior do corpo. Ovos pardacentos, operculados, com saliência irregular no polo posterior; medem 0,034 a 0,044 mm de comprimento por 0,021 a 0,025 mm de largura. Vitelinos constituidos por folículos relativa-

mente bem desenvolvidos, que se estendem da zona da ventosa oral até a zona



Mesocoelium monas (Rudolphi, 1819) — Figs. 1 e 2: Total. Originais.

acetabular ou até a zona das gônadas. Poro excretor terminal. Vesícula excretora em Y, com ramo ímpar longo.

Habitat — Intestino de *Amphisbaena* sp.

Proveniência — Manguinhos, Rio de Janeiro, D. F., Brasil.

O material estudado será depositado na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz.

BIBLIOGRAFIA

Cobbold, T. S., 1860, Synopsis of the *Distomidae*. *J. Proc. Linn. Soc. Lond., Zool.* (17) 5: 1-56.

Diesing, K. M., 1850, *Systema Helminthum*, 1, XIII + 679 pp., 11., Vindobonae.

Dujardin, F., 1845, *Histoire naturelle des helminthes ou vers intestinaux*, XVI + 654 + 15 pp., 12 pls., Paris.

LINSTOW, O., 1878, *Compendium der Helminthologie. Ein Verzeichniss der bekannten Helminthen, die frei oder in thierischen Körpern leben, geordnet nach ihren Wohnthieren, unter Angabe der Organe, in denen sie gefunden sind, und mit Beifügung der Litteraturquellen*, XXII + 382 pp., Hannover.

PARONA, C., 1896, Intorno ad alcuni distomi nuovi o poco noti. *Atti Soc. Ligust. Sci. Nat. Geogr., Genova*, 7 (3): 162-180, 7 figs.

RUDOLPHI, C. A., 1819, *Entozoorum synopsis cui accedunt mantissa duplex et indices locupletissimi*, X + 811 pp., Berolini.

STOSSICH, M., 1889, I distomi degli anfibi. Lavoro monografico. *Boll. Soc. Adriat. Sci. Nat. Trieste*, 11: 60-74.

VIANA, L., 1924, Tentativa de catalogação das espécies brazileiras de trematódeos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 17 (1): 95-227.

WALTON, A. C., 1951, Parasites of the Amphibia. II. *J. Parasit.*, 37 (5), Sec. 2, Suppl.: 23.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 175-179
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

"CULICIDAE" QUE SE CRIAM EM BURACOS DE CARANGUEIJOS (Diptera)[1]

O. P. FORATTINI
Faculdade de Higiene e Saúde Pública, São Paulo

(Com 4 figuras no texto)

A água coletada em buracos de carangueijos, principalmente os do gênero *Cardisoma* da orla marítima, serve de habitat, normal ou ocasional, a formas imaturas de diversas espécies de Culicídeos. Na Região Neotropical, podemos enumerar representantes dos gêneros *Aedes, Culex* e *Deinocerites*. Os dêste último criam-se, de maneira pràticamente exclusiva, nesse tipo de criadouro. Compulsando trabalhos de DAVIS & SHANNON (1929), LANE (1953), HORSFALL (1955) e KOMP (1956), elaboramos uma lista das principais espécies, na referida Região:

ESPÉCIES	DISTRIBUIÇÃO
Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus (Wiedemann, 1821)	U.S.A., América Central e do Sul até Rio de Janeiro (Brasil).
Culex (Culex) carcinoxenus Castro, 1932	Brasil.
Culex (Culex) inflictus Theobald, 1901	América Central, Venezuela.
Culex (Culex) janitor Theobald, 1903	Jamaica.
Culex (Culex) nigripalpus Theobald, 1901	U.S.A., América Central e do Sul.
Culex (Melanoconion) carcinophilus Dyar & Knab, 1906	América Central.
Culex (Melanoconion) opisthopus Komp, 1926	U.S.A., América Central.
Culex (Tinolestes) latisquama (Coquillet, 1906)	América Central.
Deinocerites cancer Theobald, 1901	América Central e do Sul até Estado do Maranhão (Brasil).

[1] Recebido para publicação a 16 de janeiro de 1958.
Trabalho do Departamento de Parasitologia, Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo, Brasil (Dir. Prof. Paulo C. A. Antunes).

Deinocerites pseudes Dyar & Knab, 1909	América Central.
Deinocerites epitedeus (Knab, 1907)	U.S.A., América Central.
Deinocerites spanius (Dyar & Knab, 1909)	América Central.

Como resultado de observações biológicas que levamos a efeito nos arredores da cidade de São Vicente, Estado de São Paulo, colhemos formas imaturas de Culicídeos em buracos de caranguejos. Tais formas, levadas ao laboratório forneceram adultos cuja determinação revelou tratar-se de três espécies: *Culex (Culex) carcinoxenus* Castro, 1932, *Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus* (Wiedemann, 1821) e *Aedes (Ochlerotatus) perventor* Cerqueira & Costa, 1946. Assim sendo, aproveitamos a ocasião para relatar êsses achados.

Culex (Culex) carcinoxenus Castro, 1932

Castro (1932) descreveu esta espécie, de material colhido em buracos de *Cardisoma guanhumi* em Bertioga, Estado de São Paulo, Brasil, e criado em laboratório. Posteriormente, Forattini, Rabello & Heredia (1956) encontraram-na em São Vicente, em buracos do mesmo crustáceo e no de *Oedipleura cordata.* Prosseguindo nas investigações dessa localidade, conseguimos mais 6 exemplares adultos (2 ♂ ♂ e 4 ♀ ♀) a partir de formas imaturas colhidas em buracos de *Cardisoma* (I e II-1956) e que, uma vêz no laboratório, evoluiram até a fase alada.

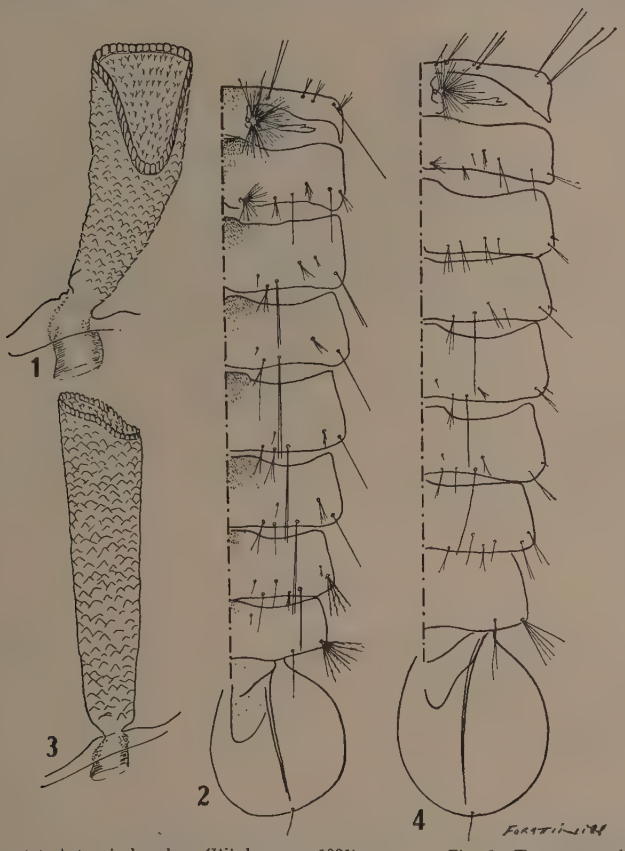
Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus (Wiedemann, 1821)

Esta espécie apresenta grande área de distribuição geográfica, que se estende pelas regiões costeiras da América do Norte, Central e do Sul. Na costa atlântica desta última, Lane (1953) acusa como limite Sul, a cidade do Rio de Janeiro. O nosso encontro em São Vicente vem por conseguinte, prolongar êsse limite sulino, no litoral do Brasil. Os seus criadouros são muito variados, estando porém sempre em relação com certo teor de salinidade. O achado em buracos de caranguejos já tinha sido assinalado por Davis & Shannon (1929) na Bahia, Brasil. Dispondo de algumas pupas colhidas em buracos de *Cardisoma,* aproveitamos a ocasião para descrever essa fase.

Pupa (figs. 1 e 2) — Côr geral, clara. Céfalotórax ligeiramente pigmentado, ressaltando o tom mais carregado das trompas respiratórias. Estas, são curtas e de comprimento igual a pouco mais de duas vêzes a largura máxima; abertura triangular, com fino reticulado; restante do corpo, revestido por escamas delgadas. Segmentos abdominais ligeiramente pigmentados na porção mediana; cerdas A mais curtas do que os respectivos segmentos, múltiplas e penadas nos segmentos VII e VIII, bifurcadas no III e simples nos demais; cerdas B bifurcadas e mais longas do que os segmentos respectivos III-IV, sendo simples e finas no VII; cerdas C formando tufo no segmento II, tetrafurcadas no III,

bifurcadas nos IV-VI e simples no VII; cerda P do segmento VIII simples; paleta natatória arredondada, com uma cerda simples na extremidade distal.

Material examinado — Tres exúvias pupais que deram origem a outros tantos adultos (1 ♂ e 2 ♀ ♀). As pupas foram coletadas em buracos de caranguejo *Cardisoma guanhumi,* nos arredores da cidade de São Vicente (II-1956).



Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus (Wiedemann, 1821), pupa — Fig. 1: Trompa respiratória; fig. 2: abdômen. *Aedes (Ochlerotatus) perventor* Cerqueira & Costa, 1946, pupa — Fig. 3: Trompa respiratória; fig. 4: abdômen.

Aedes (Ochlerotatus) perventor Cerqueira & Costa, 1946

Esta espécie foi descrita por Cerqueira & Costa (1946), baseados em material de ambos os sexos e de diversas procedências. Anteriormente Lane (1936) já a encontrara no Estado de São Paulo. Com o presente trabalho, acrescentamos mais uma localidade às já conhecidas, que poderão pois ser assim enumeradas: *Rio de Janeiro* — Mangaratiba (localidade tipo), Nova Iguaçu; *São Paulo* — Bertioga, Monte Aprazível, São Vicente; *Goiás* — Anápolis; *Paraná* — Paranaguá; *Mato Grosso* — Maracajú; *Espírito Santo* — Vitória.

Os criadouros são ainda desconhecidos. O nosso encontro em buraco de *Cardisoma guanhumi,* além de acrescentar mais uma espécie àquelas que se criam nesse meio, representa um primeiro achado sôbre a biologia da espécie em questão. Vemos porém, pela lista das localidades pelas quais se distribui, que os adultos têm sido capturados em regiões interioranas onde não existe aquela espécie de crustáceo. Em vista disso, impõe-se a conclusão de que ela deva lançar mão de diferentes criadouros na natureza. Como podemos observar uma forma pupal, aproveitamos a ocasião para descrevê-la.

Pupa (figs. 3 e 4) — Côr clara, tanto no céfalotórax como no abdômen, com exceção das trompas respiratórias que se apresentam regularmente pigmentadas. Estas são longas com comprimento igual a cêrca de 5 vêzes a largura máxima; abertura triangular, com fino reticulado; restante da superfície, coberta de delgadas escamas. Segmentos abdominais apresentando a seguinte quetotaxia: cerdas A pequenas e pouco visíveis nos segmentos II-VI, finas e duplas no VII, múltiplas no VIII; cerdas B longas e simples nos segmentos IV-VI, curtas e duplas no III e VII; cerdas C quadruplas no segmento II, triplas nos III-V, duplas nos VI e VII; cerda P do segmento VIII dupla e longa; paleta natatória oval e desenvolvida, com uma cerda simples na extremidade distal.

Material examinado — Uma exúvia pupal, com o respectivo exemplar masculino, coletada em buraco de caranguejo *Cardisoma guanhumi,* nos arredores da cidade de São Vicente (II-1956).

RESUMO

Após tecer algumas considerações sôbre *Culicidae* que se criam em buracos de caranguejos, o autor relata os seus últimos achados nos arredores da cidade de São Vicente, Estado de São Paulo, Brasil. Em buracos de *Cardisoma guanhumi* foram encontradas formas imaturas das seguintes espécies: *Culex (Culex) carcinoxenus* Castro, 1932, *Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus* (Wiedemann, 1821) e *Aedes (Ochlerotatus) perventor* Cerqueira & Costa, 1946. Esta última espécie é assinalada pela primeira vez após a descrição original, indicando o primeiro tipo de criadouros para a mesma. São descritas as pupas das duas espécies de *Aedes.*

SUMMARY

The author reports the finding of immature forms breeding in crab holes, at São Vicente, State of São Paulo, Brasil, of the following species: *Culex (Culex) carcinoxenus* Castro, 1932, *Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus* (Wiedemann, 1821) and *Aedes (Ochlerotatus) perventor* Cerqueira & Costa, 1946. Some data about geographic distribution are given and the pupae of the two species of *Aedes* are described.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Castro, G. M. O., 1932, Estudo sobre uma espécie de *Culex* que se cria em buracos de guayamú (Dipt. Culicidae). *Rev. Ent.*, 2: 97-105.

Cerqueira, N. L. & Costa, A. F., 1946, Duas novas espécies de *Aëdes* (*Ochlerotatus*). (*Diptera, Culicidae*). *Liv. Hom. R. F. d'Almeida*, 11: 133-140.

Davis, N. C. & Shannon, R. C., 1929, Studies of yellow fever in South America. V-Transmission experiments with certain species of Culex and Aëdes. *J. Exper. Med.*, 50: 803-808.

Forattini, O. P., Rabello, E. X. & Heredia, R. L., 1956, Notas sôbre *Culicidae* (*Diptera*). *Arq. Fac. Hig. S. Púb. S. Paulo*, 10: 85-88.

Horsfall, W. R., 1955, *Mosquitoes. Their bionomics and relation to disease*. 723 pp., Constable & Co., London.

Komp, W. H. W., 1956, Copulation in crab-hole mosquitoes. *Proc. Ent. Soc. Wash.* 58: 349-351.

Lane, J., 1936, Notas sôbre mosquitos de São Paulo. *Bol. Inst. Hig. S. Paulo*, 60: 10-11:

Lane, J., 1953, *Neotropical Culicidae*. 1112 pp., Univ. S. Paulo, Brazil.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 181-185
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

UM NOVO "RHODNIUS" STAL DO ECUADOR
(Hemiptera, Reduviidae) [1]

HERMAN LENT
Instituto Oswaldo Cruz,
Rio de Janeiro, Brasil

e

LUIS A. LEÓN
Facultad de Ciencias Médicas,
Quito, Ecuador

(Com 5 figuras no texto)

Nossa atenção foi solicitada por uma espécie do gênero *Rhodnius* Stal, 1859, proveniente do Ecuador, de tamanho muito pequeno e aspecto geral semelhante ao de *R. pallescens* Barber, 1932, com a qual a princípio a identificamos.

Esta última espécie, entretanto, que sòmente foi assinalada no Panamá, é diferente da que agora descrevemos como nova: tem tamanho muito maior, as manchas dorsais do conexivo são mais nítidas e, nos machos, o processo mediano do 9.º esternito ou processo mediano do *pygophore* tem aspecto distinto (figs. 3 a 5).

Rhodnius ecuadoriensis sp. n.

Comprimento total — Machos 12,5 a 13,5 mm; fêmeas 14,5 mm.

Largura máxima — (ao nível do pronoto) 2,5 a 3 mm e 2,8 a 3,2 mm, respectivamente, em machos e fêmeas; (ao nível do abdômen) 3,8 a 4,2 mm e 4,8 a 5,2 mm, respectivamente, em machos e fêmeas.

Inseto pequeno, de colorido geral pardacento-claro com manchas castanhas esparsas em todo o corpo, quer constituindo faixas inteiras, quer à maneira de pontilhado que proporciona, pelo menos nas patas, um aspecto típico. Tegumento revestido de fina pilosidade dourada, sòmente granuloso em regiões da cabeça e do tórax.

Cabeça mais longa do que o pronoto, com 2,5 a 3 mm de comprimento, igual ao pronoto mais a metade do comprimento do disco do escutelo (isto é, sem o ápice), de colorido castanho e a faixa dorsal longitudinal um pouco mais clara, porém nitidamente elevada, que se prolonga pelo *tylus* e vai, posteriormente, até o sulco inter-ocelar; as partes claras são pouco nítidas, de contor-

[1] Recebido para publicação a 5 de fevereiro de 1958.

nos mal delimitados, inclusive a que se encontra entre os ocelos, em alguns exemplares mais pigmentados, enquanto em outros essas partes mais claras se mostram como habitualmente nas demais espécies. Tegumento pouco granuloso e cerdas pequenas, regularmente distribuídas. Região ante-ocular com cêrca de 3 vêzes o comprimento da pós-ocular. *Tylus* ou clípeo pouco saliente, apenas alargado anteriormente. *Genae* grossas, apenas ultrapassando o ápice do *tylus*. Ante-clípeo largo, dando inserção ao labro acuminado. Olhos laterais, vistos de perfil atin-

Fig. 1 — *Rhodnius ecuadoriensis* sp. n., holótipo macho, vista dorsal.

gem a face ventral da cabeça e estão afastados da dorsal. Distância inter-ocular dorsal maior do que a largura de um ôlho, na relação de 1:3/4. Ocelos oblongos, laterais, mais afastados entre si do que os olhos, implantados ao nível do meio da região pós-ocular, que é mais dilatada que a ante-ocular. Calosidade lateral pós-ocular pronunciada.

Antenas implantadas quase no ápice da cabeça, lateralmente, em tubérculos anteníferos nítidos; 1.º artículo antenal curto, atingindo ao nível do ápice

das *genae*, o mais grosso dos segmentos antenais e com poucas cerdas; o 2.º artículo é mais delgado, revestido de poucas cerdas, pardo nos 3/5 proximais e castanho-escuro nos 2/5 distais; 3.º artículo mais fino do que o 2.º e, ao contrário dêste, é mais escuro na metade proximal do que na distal, sendo revestido de cerdas pequenas e alguns pêlos longos; o 4.º artículo é idêntico ao 3.º, menor do que êle, porém de côr totalmente amarelo-sujo.

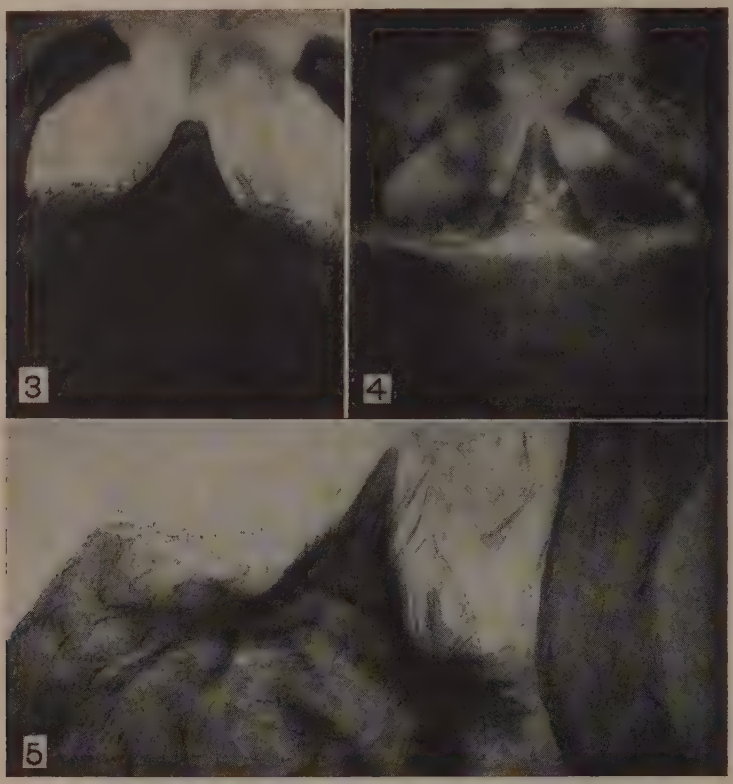
Fig. 2 — *Rhodnius ecuadoriensis* sp. n., holótipo macho, vista dorsal.

Rostro longo, delicado, achatado dorso-ventralmente, revestido de cerdas curtas pouco abundantes e alguns pêlos longos no 3.º artículo. O 1.º artículo termina ao nível da implantação das antenas nos tubérculos anteníferos e o 2.º se prolonga até ao nível do bordo posterior da cabeça.

Pescoço liso, pardo-claro, com 1 + 1 manchas dorsais longitudinais castanhas e 1 + 1 manchas laterais de colorido idêntico.

Pronoto trapezoidal, pardacento, revestido de cerdas douradas curtas, o lóbulo anterior separado do posterior por sulco nítido situado adiante do meio do comprimento total do pronoto. O lóbulo anterior tem as manchas glabras

castanhas habituais e 1 + 1 manchas castanhas para dentro e para trás dos ângulos anteriores; neste lóbulo, o tegumento, nas partes em que não é glabro, é granuloso, enquanto no lóbulo posterior todo o tegumento é granuloso e rugoso. As carenas longitudinais são longas, pois percorrem quase todo o lóbulo



Rhodnius ecuadoriensis sp. n. — Fig. 3: Processo mediano do *hypandrium* após tratamento pela potassa e diafanização no fenol; fig. 4: idem, exemplar sêco, com o *pygophore* projetado. Fig. 5 — *Rhodnius pallescens* Barber, 1932, processo mediano do *hypandrium*.

anterior e todo o posterior até o bordo posterior; essas carenas, que são pardo-amareladas, separam o pronoto em 3 partes, uma central e 1 + 1 laterais e no lóbulo posterior essas partes têm o tegumento pardacento, irregularmente pintalgado de colorido castanho, de maneira a constituir faixas longitudinais pouco distintas de colorido mais escuro, sendo duas em cada uma das 3 partes em que as carenas dividem o lóbulo. Não há tubérculos ou saliências discais ou laterais. Os ângulos anteriores e os posteriores são nítidos, porém pouco pronunciados. Colarinho bem delimitado.

Propleura granulosa, pardo-amarelada numa faixa em tôda a extensão que limita o pronoto, no resto pardacenta com manchinhas castanhas. Meso e metapleuras grânulo-rugosas, pardacentas com manchinhas castanhas irregulares.

Prosterno com sulco nítido e marginado por 1 + 1 saliências pronunciadas. Meso e metasterno granulosos. Todo o esterno é pardacento com manchas castanhas irregulares. Não só o esterno, como as pleuras, têm revestimento de numerosas cerdas douradas.

Escutelo triangular, com ápice rugoso, reto e de colorido pardo-amarelado; o tegumento do disco é rugoso e de colorido castanho escuro, não só nas faces laterais como nas 3 depressões, uma central e 1 + 1 laterais, delimitadas por 2 + 2 cristas que convergem para o ápice e são pardo-amareladas. O tegumento do escutelo é revestido de cerdas esparsas, pouco numerosas.

Patas delgadas, pardacentas e manchadas de castanho irregularmente salpicado em todos os segmentos, porém mais nìtidamente nos fêmures; o revestimento é de cerdas curtas e os fêmures são inermes. Tíbias dos 1.º e 2.º pares de patas com fosseta esponjosa apical pequena nos 2 sexos.

Hemi-élitros quase atingindo o ápice do abdômen nos 2 sexos, apenas afastados da extremidade em cêrca de 0,5 a 1 mm, pardacentos e manchados irregularmente de castanho.

Abdômen revestido de cerdas douradas curtas na face ventral, de colorido pardacento e com manchas castanhas pequenas e irregulares em salpicado por tôda a face. Estigmas respiratórios arredondados, amarelados, ao nível de cada segmento e um pouco distanciados do bordo conexival. Conexivo dorsal mais largo do que o ventral, com mancha castanha na metade ou 1/3 anterior de cada segmento, porém mais visíveis na face ventral do que na dorsal, onde apenas se pressente sua existência sôbre o colorido pardacento geral.

Genitália feminina externa não prolongada. Genitália masculina com *pygophore* pequeno, o processo mediano do 9.º esternito (processo mediano do *hypandrium*) sendo simples, porém de ponta embotada, não aguda.

Material examinado — Ecuador, La Toma, 1270 m, Valle de Catamayo, Prov. de Loja, Luis A. León col. 10-1955: 3 machos, 2 fêmeas, 2 ninfas, holótipo, alótipo e parátipos, depositados na coleção de hemípteros do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, e na coleção da Cátedra de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina, Quito. Todo êsse material foi capturado em domicílio.

BIBLIOGRAFIA

LENT, H., 1948, O gênero *Rhodnius* Stal, 1859 (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Brasil. Biol.*, 8 (3): 297-339, figs. 1-47.

LENT, H., 1954, Comentários sôbre o gênero *Rhodnius* Stal, 1859, com descrição de uma nova espécie do Brasil (Hemíptera, Reduviidae). *Rev. Brasil. Biol.*, 14 (3): 237-247, figs. 1-20

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 187-192
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

THE BRAZILIAN SPECIES OF "DREPANOTREMA". IV. "D. cimex" (Moricand, 1837)[1]

W. LOBATO PARAENSE
Instituto Oswaldo Cruz,
Rio de Janeiro, D. F.

and

NEWTON DESLANDES
Instituto Nacional de Endemias Rurais,
Belo Horizonte, Minas Gerais

(With 11 text-figures)

The planorbid studied in this paper was originally described by MORICAND (1837) under the name *Planorbis cimex*. Its type locality is Bahia, Brazil.

The present study is based on a sample from Belo Horizonte, and on another from Cachoeira (State of Minas Gerais). The anatomical observations were made in 25 specimens from the first sample and 10 from the second one, which measured from 6 to 8.5 mm in shell diameter. Serial histological sections from two adult specimens were also observed. Twenty shells and three dissected specimens were deposited in the collection of Instituto Oswaldo Cruz (no. 7627-7628).

The three species *Drepanotrema anatinum, D. melleum* and *D. depressissimum* are frequently mentioned in the present study, in comparison with *D. cimex*. The data concerning them were presented in three previous papers (PARAENSE & DESLANDES, 1956a, b, 1957).

SHELL
(Fig. 1)

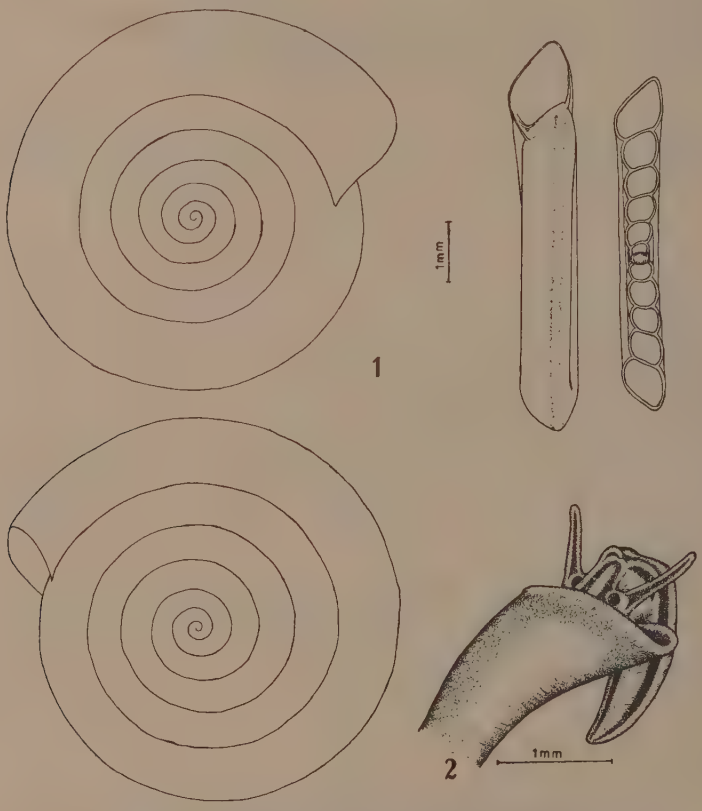
The adult shell is thin, translucent, pale amber in colour, finely obliquely striated, and has 6 to 7 whorls. The largest shell was 8.5 mm in diameter and 1.5 mm in width. The whorls increase slowly and are plainly visible on both sides. The right side of the shell is broadly concave and the left side is flat. The intersection of the two sides forms a well marked, although somewath blunt, carination, which runs along or near the extreme left of the periphery. The aperture is narrow and heart-shaped.

[1] Received for publication October 29, 1957.

Work from the Instituto Oswaldo Cruz and the Instituto Nacional de Endemias Rurais, aided by the Conselho Nacional de Pesquisas.

ANIMAL
(Fig. 2)

When in locomotion, the animal carries its shell on the left, nearly parallel to the substratum. The exposed soft parts are light gray. The pigment pattern is exactly similar to that of *D. melleum* and *D. depressissimum*. The right ventral portion of the mantle collar projects forwards, covering a small extent of the



D. cimex — Fig. 1: Shell; fig. 2: animal, showing the pigment pattern.

first part of the outer whorl. The pseudobranch is simple and small. A very low rectal ridge extends from the pseudobranch into the pulmonary cavity, dimming out along the nidamental gland.

PALLIAL ORGANS

The renal tube, very long and narrow, shows no sign of renal ridge. The ureter opens out by a subterminal meatus. As in the three previously studied species, there is no dorsolateral ridge.

GENITALIA
(Figs. 3-10)

The ovotestis consists of numerous short, unbranched, sac-like diverticula which decrease in size from the cephalic toward the caudal end of the organ. The diverticula are arranged in a double series, with the exception of the hindermost ones, which are placed in a single row.

The ovisperm duct has a long proximal segment which opens subterminally into the caudal end of the seminal vesicle. The seminal vesicle is poorly

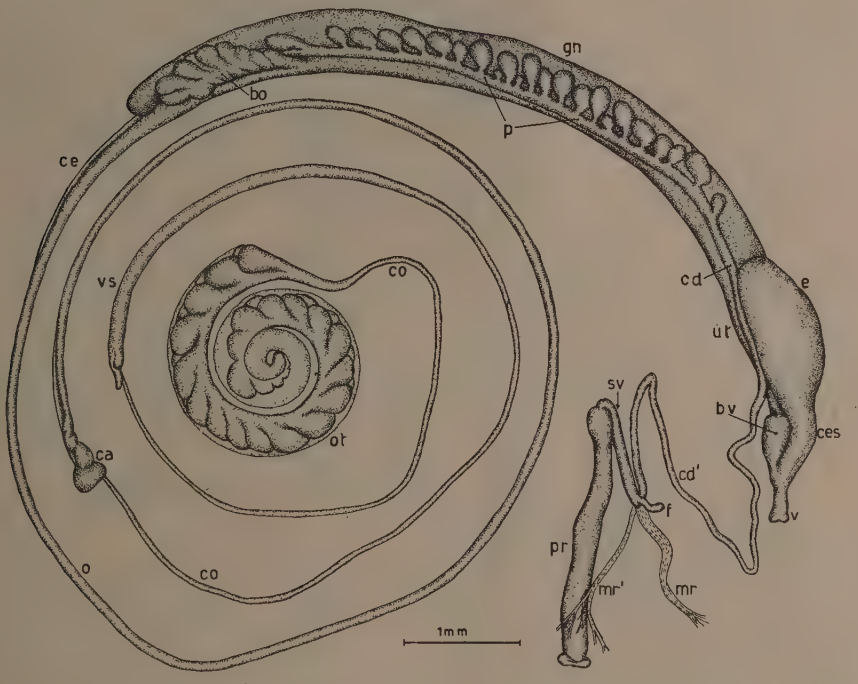


Fig. 3 — Genitalia (bo = pouch of oviduct, bv = vaginal pouch, ca = carrefour, cd = proximal segment of vas deferens, cd' = distal segment of vas deferens, ce = sperm duct, ces = spermathecal duct, co = ovisperm duct, e = body of spermatheca, f = flagellum, gn = nidamental gland, mr, mr' = retractor muscles of penial complex, o = oviduct, ot = ovotestis, p = prostate, pr = preputium, sv = vergic sac, ut = uterus, v = vagina, vs = seminal vesicle).

developed, looking like a mere swelling of the ovisperm duct. It begins as a tapering blind end, and soon its diameter becomes twice or thrice that of the ovisperm duct. Then it gradually narrows down and continues imperceptibly into the distal segment of the ovisperm duct, which empties into the carrefour.

The sperm duct is about the same length as the ovisperm duct (including the seminal vesicle). Its distal end passes into a groove formed by the wall and the pouch of the oviduct. Immediately after leaving that groove, the sperm

duct receives a single row of prostate diverticula, the number of which varied from 17 to 26. The prostate diverticula are short, unbranched and ovoid; each of them is attached to the sperm duct by a narrow and short stalk. A very small and sessile diverticulum is frequently intercalated between two well developed ones. The vas deferens follows the sperm duct and ends on the proximal extremity of the vergic sac. The vergic sac is about half as long as the preputium, and has a single and very short flagellum, and two retractor muscles, attached to its proximal end. One of the retractor muscles extends backwards to merge

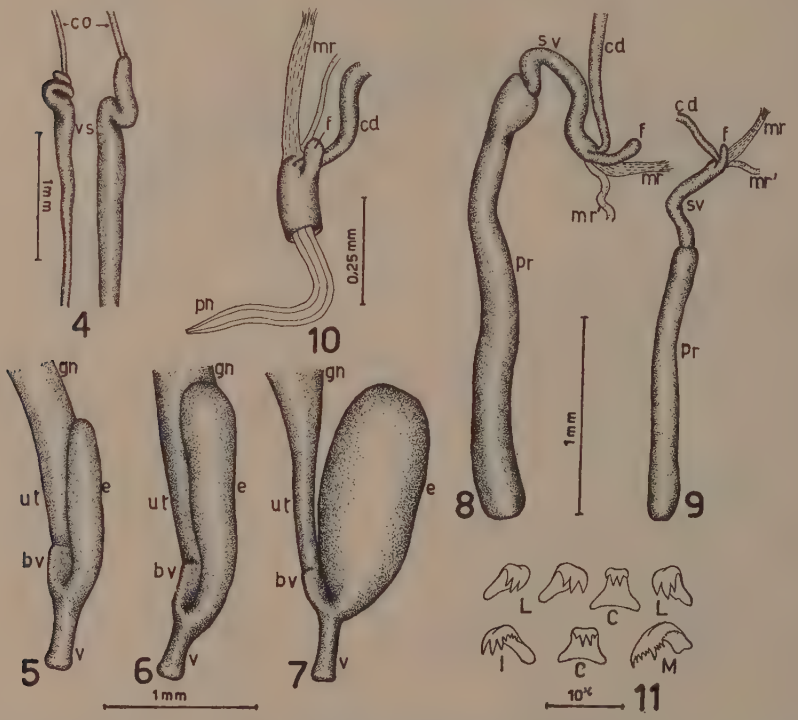


Fig. 4 — Transition from ovisperm duct (co) to seminal vesicle (vs). Figs. 5, 6, 7 — Variants of female copulatory organs (bv = vaginal pouch, e = spermatheca, gn = nidamental gland, ut = uterus, v = vagina). Figs. 8, 9, 10 — Variants of male copulatory organs (cd = vas deferens, f = flagellum, mr, mr' = retractor muscles, pn = verge, pr = preputium, sv = vergic sac). Fig. 11 — Radula teeth (C = central, I = Intermediate, L = lateral, M = marginal).

into the columella muscle. The other extends forwards, inserting in the connective tissue around the base of the preputium. In most specimens, the vergic sac is bent forwards by the action of the last mentioned muscle. The verge, approximately as long as the vergic sac, is unarmed and has an axial sperm canal with a terminal outlet. Its histological structure is similar to that of the other three species. The preputium, about twice as wide as the vergic sac, has two slender muscular pilasters along its wall.

The albumen gland shows no features of particular interest. The oviduct is generally from two to three times as long as the nidamental gland and uterus conjointly. The cephalic end of the oviduct swells into a pouch similar to that of *D. melleum* and *D. depressissimum,* the walls of which show numerous small outpocketings. The passage from the nidamental gland to the uterus is not marked by any macroscopically perceptible sign. The vagina has two portions of about the same length, one above, and the other below the attachment of the spermatheca. The upper portion shows a lateral smooth-walled pouch, whereas the lower portion is rounded and tubular. The spermathecal body is large, has an ovoid or clavate shape, and tapers into a relatively wide duct about half as long as the body. In most specimens the apex of the spermathecal body does not reach the level of the foremost prostate diverticulum. The spermathecal duct is as wide as the vagina, or even wider than it. In some specimens, however, the spermathecal duct is so wide that no limit can be traced between it and the spermathecal body.

JAW AND RADULA

The jaw is similar to that of the other three species. It consists of many small plates arranged in a single horseshoe-shaped piece.

The radulae of 13 specimens showed the following characteristics: formula 21-1-21 to 30-1-30, with 180 to 206 horizontal rows; central tooth bicuspid, with a small denticle high on the lateral side of each cusp; 6 to 8 laterals, 3 to 5 intermediates, 11 to 18 marginals. The radula teeth are shown in fig. 11.

COMPARISON WITH RELATED SPECIES

The shell of *Drepanotrema cimex* looks somewhat like those of *D. melleum* and *D. depressissimum.* However, a close comparison shows that *D. cimex* is intermediate in width and in degree of carination.

From those three species, the dimensions of the largest shells measured by us were the following (diameter x width): *D. melleum,* 5.5 x 1.5 mm; *D. cimex,* 8.5 x 1.5 mm; *D. depressissimum,* 9.5 x 1 mm. Those figures show that the shell of *D. cimex* is absolutely wider than that of *D. depressissimum.* On the other hand, it is relatively narrower than that of *D. melleum,* which has the same width but is smaller in diameter.

As to the carination, in *D. melleum* it is scarcely perceptible as a subangulation on the periphery of the shell, whereas in *D. depressissimum* the periphery is very sharply carinated. In *D. cimex* there is a true carination, more perceptible than in *D. melleum,* but much less marked than in *D. depressissimum.*

As regards the genital organs, the following characters may be useful to separate *D. cimex* from the other species of *Drepanotrema* previously studies by us:

The seminal vesicle tends to be straight in *cimex,* and more or less sinuous in *anatinum, melleum* and *depressissimum.* The prostate diverticula are short and ovoid in *cimex* and *anatinum* (but much less numerous in the latter); long and tubular in *melleum* and *depressissimum.* The flagellum is single and very short, almost rudimentary, in *cimex;* double and much longer, in the other three. The vagina has a lateral swelling (vaginal pouch) in *cimex* and *melleum;* it is even and smooth in *anatinum* and *depressissimum.* The spermathecal duct is as wide as the vagina in *cimex;* narrower in *anatinum* and *melleum,* and characteristically swollen in *depressissimum.*

SUMMARY

The planorbid species *Drepanotrema cimex* (Moricand, 1837) is defined anatomically. Its diagnostic characters are the following:

Shell up to about 8 mm in diameter and 1.5 mm in width, periphery carinated. Absence of renal and dorsolateral ridge. Ovotestis diverticula simple, sac-like, arranged in a double series. Prostate longer than the spermatheca. Prostate diverticula unbranched, short and ovoid, and arranged in a single row. Flagellum single, short, almost rudimentary. Vergic sac about half as long as the preputium. Pouch of the oviduct with small outpocketings resembling the prostate diverticula. Vagina short and with a lateral swelling above the attachment of the spermatheca. Spermatheca clavate. Spermathecal duct about as wide as the vagina.

REFERENCES

Moricand, S., 1837, Mémoires sur quelques coquilles fluviatiles et terrestres d'Amérique. Premier supplément au Mémoire sur les coquilles terrestres et fluviatiles de la Province de Bahia, envoyées par M. Blanchet, pp. 33-42. Extrait des *Mém. Soc. Phys. Hist. Nat. Genève.*

Paraense, W. L. & Deslandes, N., 1956a, The Brazilian species of *Drepanotrema.* I. *D. anatinum* (Orbigny, 1835). *Rev. Brasil. Biol.,* 16 (4): 491-499.

Paraense, W. L. & Deslandes, N., 1956b, The Brazilian species of *Drepanotrema.* II. *D. melleum* (Lutz, 1918). *Rev. Brasil. Biol.,* 16 (4): 527-534.

Paraense, W. L. & Deslandes, N., 1957, The Brazilian species of *Drepanotrema.* III. *D. depressissimum* (Moricand, 1837). *Rev. Brasil. Biol.,* 17 (3): 339-344.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 193-198
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

NEOMICINA: AÇÕES NAS MUSCULATURAS VISCERAL, VASCULAR E CARDÍACA [1]

ALEXANDRE PINTO CORRADO e ARMANDO OCTÁVIO RAMOS
Faculdade de Medicina, Ribeirão Prêto, São Paulo

(Com 4 figuras no texto)

Em trabalho anterior, tivemos a oportunidade de demonstrar que além das estreitas relações químicas, antibióticas e de toxicidade, existem, também grandes semelhanças no que diz respeito à certas ações farmacológicas entre a neomicina e a estreptomicina. Assim, as ações ganglioplégicas e curarizante da neomicina (Corrado & Ramos, 1958) têm características semelhantes às encontradas com a estreptomicina (Vital Brazil & Corrado, 1957 e Corrado, 1957), inclusive quanto ao antagonismo apresentado pelo ionte cálcio.

Sabe-se, por outro lado, que a estreptomicina apresenta ações musculotrópicas negativas tanto na musculatura vascular e cardíaca (Donatelli & Flori, 1947 e Corrado, 1957) como na visceral (Donatelli & Flori, 1947; De Nito, 1949; Strüder & Simon, 1949 e Campbell & Kramer, 1950).

O presente trabalho tem por objetivo verificar as ações musculotrópicas da neomicina e aquilatar a importância destas ações no mecanismo da hipotensão produzida por êste antibiótico.

MATERIAL E MÉTODOS

1.º) *Musculatura visceral*: Usamos nestas experiências, duas preparações de órgão isolado, o duodeno de coelho e o íleo de cobáio: 3 coelhos e 3 cobáios foram sacrificados com uma pancada na cabeça e imediatamente sangrados. Os segmentos intestinais eram então retirados, lavados com Tyrode e mergulhados em banhos de capacidade 10 cm^3 (íleo de cobáio) e 20 cm^3 (duodeno de coelho) de Tyrode devidamente oxigenado e mantido à temperatura constante de 37°C. O registro das contrações dos segmentos intestinais foi feito por meio de uma alavanca frontal isotônica.

[1] Recebido para publicação a 22 de outubro de 1957.

2.º) *Musculatura vascular*: Usamos 4 cães anestesiados pelo "Nembutal" (30 mg/kg i.v.) e prèviamente injetados com brometo de hexametônio, na dose de 2 mg/kg, no sentido de abolirmos os influxos do sistema nervoso central e ganglionar, e efedrina (1 mg) para aumentarmos o tono dos vasos sanguíneos, diminuído pela ação do ganglioplégico.

3.º) *Musculatura cardíaca*: Perfusão de coração de coelho — Método de Langendorff — Foram usados 4 coelhos sacrificados e sangrados consoante à técnica supra-referida. Em seguida, o coração era retirado e imediatamente lavado com solução de Ringer Locke gelada. A aorta era, então, canulada e o coração perfundido com aquela solução nutriente, devidamente oxigenada e aquecida à temperatura constante de 37ºC. Registramos as contrações ventriculares da preparação isolada, por meio de uma alavanca de Starling.

RESULTADOS

1.º) Musculatura lisa visceral

a) *Duodeno de coelho*: a junção ao banho de neomicina, determinou sempre a diminuição do tono e da amplitude das contrações espontâneas do segmento de duodeno.

Concentrações finais de neomicina, no banho, da ordem de 1 mg/cm³ causaram o relaxamento do duodeno prèviamente contraído pela adição ao banho de $BaCl_2$ em concentração de 1 mg/cm³. O ionte cálcio, adicionado ao banho sob a forma de cloreto de cálcio, não foi capaz de antagonizar, em concentração no banho da ordem de 1,5 mg/cm³, o efeito musculotrópico negativo da neomicina (fig. 1).

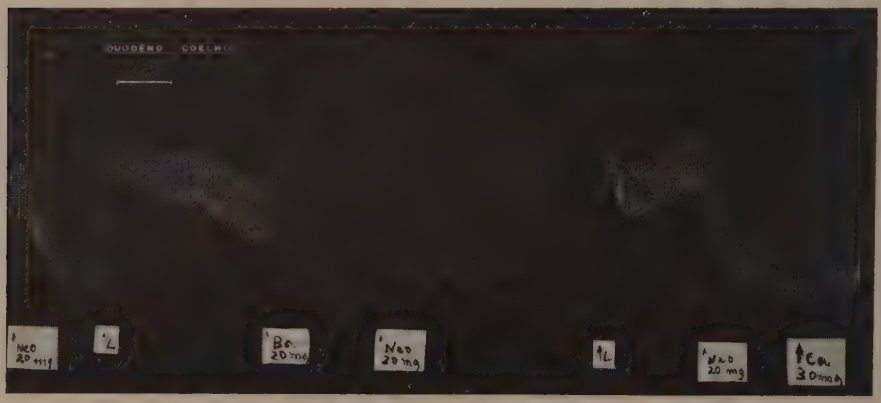


Fig. 1 — Registro das contrações de segmento de duodeno isolado de coelho, imerso em banho de 20 cm³ de Tyrode devidamente oxigenado e mantido à temperatura constante a 37ºC. (Em *Neo*: Sulfato de Neomicina — 0,5 cm³ de uma solução a 4%. Em *Ba*: Cloreto de Bário — 0,5 cm³ de uma solução a 4%. Em *Ca*: Cloreto de cálcio — 0,75 cm³ de uma solução a 4%. Em *L*: Lavagem da preparação — 3 vêzes consecutivas). *Observar*: a) o efeito relaxante da neomicina antagonizando a contração espasmódica determinada pelo cloreto de bário; b) a falta de antagonismo pelo ionte cálcio.

b) *Íleo de cobáio*: A neomicina, na concentração final no banho de $1.10^{-3}/cm^3$ antagonizou o estado de contração espasmódica prolongada do segmento de íleo de cobáio determinado pela prévia junção ao banho nutriente de acetilcolina, histamina e cloreto de bário (fig. 2), nas concentrações de 1.10^{-8} e $6.10^{-3}/cm^3$ no banho, respectivamente. O ionte cálcio, sob a forma de $CaCl_2$, não foi capaz de antagonizar êste efeito relaxante da neomicina, o que poderá se observar na fig. 2.

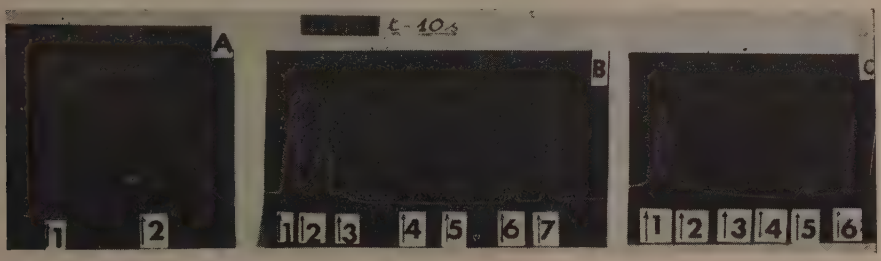


Fig. 2 — Segmento isolado de íleo de cobáio imerso em banho de 10 cm^3 de Tyrode devidamente oxigenado e a 37°C. (Em *A*: 1 — 0,2 cm^3 de $BaCl_2$ a 3%; 2 — 0,2 cm^3 de sulfato de neomicina a 5%. Entre 1 e 2 a preparação sofreu 3 lavagens sucessivas. Em *B*: 1 — 0,2 cm^3 de $BaCl_2$ a 1,5%; 2 — 0,2 cm^3 de $BaCl_2$ a 1,5%; 3 — 0,2 cm^3 de sulfato de neomicina a 2,5%; 4 — 0,2 cm^3 de $BaCl_2$ a 1,5%; 5 — 0,2 cm^3 de $BaCl_2$ a 1,5%; 6 — 0,2 cm^3 de $BaCl_2$ a 1,5%; 7 — 0,2 cm^3 de $BaCl_2$ a 1,5%. A preparação sofreu 3 lavagens consecutivas, entre 1 e 2; 2 e 3; 5 e 6; 6 e 7. Em *C*: 1 — 0,2 cm^3 de $BaCl_2$ a 1,5%; 2 — 0,2 cm^3 de sulfato de neomicina a 2,5% + 0,2 cm^3 de $CaCl_2$ a 10%; 3 — 0,2 cm^3 de $BaCl_2$ a 1,5%; 4 — 0,2 cm^3 de $BaCl_2$ a 1,5%; 5 — 0,2 cm^3 de $BaCl_2$ a 1,5%; 6 — 0,2 cm^3 de $BaCl_2$ a 1,5%. Três lavagens da preparação foram executadas entre 1 e 2; 4 e 2; 5 e 6).

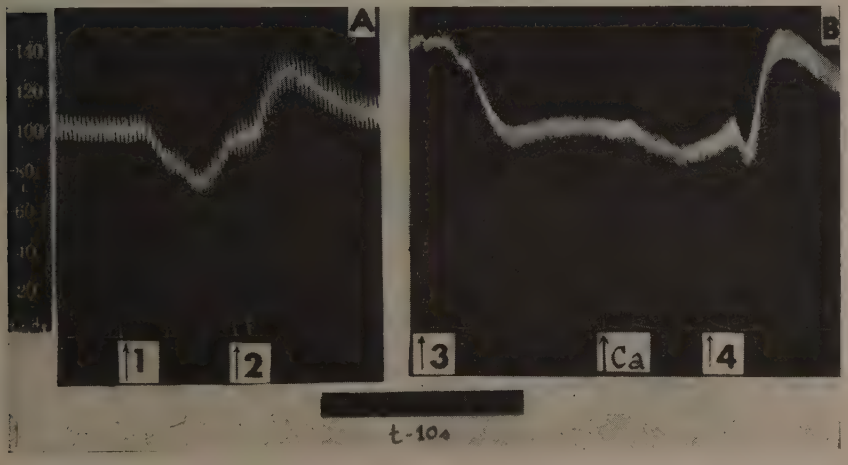


Fig. 3 — Cão 10 kg anestesiado pelo "Nembutal" (30 mg/kg i.v.). Traçado superior: registro da pressão sanguínea arterial. Traçado inferior: linha a Omm de mercurio com indicação das injeções efetuadas. Tempo: 10 segundos. (Em A: 1 — brometo de hexametônio 2 mg/kg i.v.; 2 — cloridrato de efedrina 1 mg i.v. Entre *A* e *B*: 5 minutos de intervalo. Em *B*: 3 — sulfato de neomicina 100 mg/kg i.v. *Ca* — cloreto de cálcio a 10% — 0,5 cm^3/kg i.v.; 4 — cloridrato de efedrina 1 mg i.v.). *Observar*: queda da pressão arterial ocasionada pela neomicina e não antagonizada pelo cálcio.

2.º) Musculatura lisa vascular

Nos 4 cães usados, a neomicina sempre causou quéda da pressão sangüínea arterial, mesmo após a prévia administração de hexametônio. Êste efeito não foi antagonizado pelo ionte cálcio, administrado sob a forma de $CaCl_2$ a 10% (fig. 3).

Musculatura cardíaca

Perfusão de coração de coelho — A adição ao líquido de perfusão, de doses sucessivamente maiores de neomicina, causa sempre diminuição da amplitude de contração do batimento ventricular, obtendo-se mesmo parada cardíaca com doses iguais ou maiores de 1 mg da droga. Êste efeito depressor do miocárdio é sempre acompanhado de um aumento do fluxo coronário. O ionte cálcio, sob a forma de $CaCl_2$ a 4%, antagonizou os efeitos do antibiótico na musculatura cardíaca e no fluxo coronário (fig. 4).

Fig. 4 — Perfusão de coração de coelho com solução de Ringer Locke a 37°C. Registro das contrações ventriculares. Tempo 10 segundos. Adição de sulfato de neomicina ao líquido de perfusão em: 1 — 50 mg — fluxo coronário de 17 cm³/min. para 28 cm³/min.; 2 — 25 mg — fluxo coronário de 17 cm³/min. para 27 cm³/min.; 3 — 10 mg — fluxo coronário de 14 cm³/min. para 22 cm³/min.; 4 — 2,5 mg — fluxo coronário de 15 cm³/min. para 20 cm³/min.; 5 — 1 mg — fluxo coronário de 11 cm³/min. para 17 cm³/min.; 6 — 0,5 mg — fluxo coronário de 11 cm³/min. para 17 cm³/min.; 7 — 0,2 mg — fluxo coronário de 11cm³/min. para 16 cm³/min.; 8 — 0,1 mg — fluxo coronário de 11 cm³/min. para 15 cm³/min.; 9 — 0,05 mg — fluxo coronário de 10 cm³/min. para 12 cm³/min. (Em *Ca*: cloreto de cálcio a 10% — 10 mg no líquido de perfusão-fluxo coronário de 28 cm³/min. caiu para 17 cm³ por min.). *Observar*: a) os efeitos da neomicina nos batimentos ventriculares e no fluxo coronário; b) o efeito antagônico nítido do ionte cálcio.

DISCUSSÃO

Na presente investigação verificamos que, as semelhanças de ações farmacológicas entre a neomicina e a estreptomicina, são ainda mais acentuadas, não

se limitando sòmente às atividades ganglioplégicas e curarizantes (Corrado & Ramos, 1958), mas se estendendo, também, aos territórios das musculaturas vascular, visceral e cardíaca.

A neomicina revelou atividade musculotrópica negativa, em doses bastante inferiores àquelas de estreptomicina, necessárias para produzirem os mesmos efeitos (Corrado, 1957). Da mesma forma, êste antibiótico, mostrou-se cêrca de 500 vêzes mais potente em suas propriedades depressoras do miocárdio do que a estreptomicina (Donatelli & Flori, 1947 e Corrado, 1957).

O efeito hipotensor, determinado pela neomicina pode, em parte, ser explicado como decorrente de sua ação paralizante dos gânglios autonômicos. Outros fatôres, entretanto, devem participar dêsse mecanismo hipotensor, de maneira análoga ao que Corrado (1957) demonstrou para a estreptomicina.

Pareceu-nos de decisiva importância verificar se, afastada a participação do sistema nervoso central e dos gânglios autonômicos (experiências em cães que receberam prèviamente hexametônio) a neomicina ainda determinaria hipotensão. O fato de, nessas condições, obtermos queda da pressão arterial, não antagonizável pelo ionte cálcio, orientou o nosso trabalho no sentido de investigarmos se a ação da droga se efetuaria no miocárdio, nos vasos sanguíneos ou em ambas as estruturas.

Os resultados obtidos em nossas experiências, mostraram que a neomicina age como depressor do miocárdio e da musculatura lisa, com a única diferença de que o ionte cálcio antagoniza sòmente a ação cardíaca dêsse antibiótico. Ora, êstes achados, comparados com as nossas experiências sôbre ganglioplegia (Corrado & Ramos, 1958), nas quais o cálcio exercia efeito antagônico, levou-nos à conclusão de que, a depressão cardíaca é de importância secundária, ao passo que a depressão da musculatura vascular participa, além da ganglioplegia, na hipotensão determinada pela injeção venosa de neomicina.

RESUMO

1) Estudou-se a ação da neomicina sôbre o miocárdio e musculatura lisa vascular e visceral.

2) A neomicina apresenta atividade musculotrópica negativa, sôbre a musculatura dos intestinos e dos vasos sanguíneos. O ionte cálcio não antagoniza as ações anti-espasmódicas diretas dêsse antibiótico.

3) A neomicina possui potente ação depressora do coração. A administração de cálcio antagoniza as suas ações sôbre o miocárdio.

4) Atribuiu-se um duplo mecanismo periférico na gênese da hipotensão determinada por êste antibiótico: sua ação ganglioplégica e sua atividade depressora da musculatura vascular.

5) Discutiu-se as semelhanças farmacológicas existentes entre neomicina e estreptomicina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Campbell, J. & Kramer, I. R. H., 1950, Effect of streptomycin preparations on gut responses to contractor substances. *Nature*, 165 (4185): 78-79.

Corrado, A. P., 1957, Ganglioplegic action of streptomycin. Em publicação no *Arch. Int. Pharmacodyn.*

Corrado, A. P., 1957, *Considerações sôbre os efeitos da estreptomicina na pressão arterial.* Tese de doutoramento à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Corrado, A. P. & Ramos, A. O., 1958, Neomycin — its curariform and ganglioplegic actions. *Rev. Brasil. Biol.*, 18 (1): 81-85.

De Nito, A., 1949, Ricerche Farmacologiche sulla streptomicina. 1) Azione sull'intestino isolato. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 25/8: 1045-1047.

Donatelli, L. & Flori, G. A., 1947, Le azioni secondarie della streptomicina — ricerche sperimentali. *Riv. Clin. Pediat.*, 45/6: 513-539.

Strüder, J. & Simon, K., 1949, Der pharmakodynamische streptomycin effekt am Darm. *Arch. Kinderh*, 137: 236-251.

Vital Brazil, O. & Corrado, A. O., 1957, The curariform action of Streptomycin. *J. Pharm. Exper. Therap.*, 120 (4): 452-459.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 199-207
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

A NEW GENUS OF "DITOMYIINAE". DESCRIPTION OF TWO NEW SPECIES WITH BIONOMICAL NOTES
(Diptera, Mycetophilidae)[1]

J. LANE
Faculdade de Higiene e Saúde Pública,
São Paulo, Brasil

and

H. STURM
Zoologisches Institut, Universität,
Mainz, Germany

(With 12 text-figures)

When Edwards (1925) and Tonnoir (1929) studied this subfamily, it was represented by the following four genera: *Nervijuncta* Marshall, *Australosymmerus* Freeman (= *Centrocnemis* Philippi), *Ditomyia* Winnertz and *Symmerus* Walker. An additional genus (*Rhipidita*) was described in 1940 by Edwards and in 1946 Lane described *Calliceratomyia* which he then placed in the subfamily *Keroplatinae*. Freeman in 1951 showed that *Centrocnemis* Philippi was preoccupied and proposed the name *Australomyia* which in 1953 was replaced by *Australosymmerus*. While undertaking a study of the thoracic sclerites, Shaw in 1951, removed the genus *Calliceratomyia* from the subfamily *Keroplatinae* and placed it correctly in the subfamily *Ditomyiinae*.

This subfamily presently comprises six genera of which two occur outside of the Neotropical region, two of them are distributed over more than two zoogeographical regions while the remaining two genera are endemic to the Neotropics. In this paper another genus is described as new based on material collected by the junior author in Colombia.

Neoditomyia g. n.

Mouth parts small, about as long as palpal segment II. Palpus four segmented, segment I shorter, the others elongate, II seems to bear a sensory organ at apex. Antenna with segments large, flattened, triangular and bearing distinct necks, or, very broad and twice as long as wide. Two ocelli only, placed in the middle of occiput and quite removed from the eye margin. Posterior pronotum apparently without setae. Katepisternite with an intrusion towards the anepisternite which does not show such a development as can be observed

[1] Received for publication December 3, 1957.

in *Symmerus* and *Nervijuncta,* the area of the katepisternite is, however, quite large and nearly twice that of the anepisternite. Anterior spiracle bearing numerous long hairs in front as well as behind. Anepisternite with setae on its upper margin. Pteropleurite (the mesothoracic epimeron of SHAW) large, subtriangular but not reaching the sternal portion of pleura and basally compressed between the katepisternite and the pleurotergite. Pleurotergite with numerous setae on the upper portion. Postnotum with many black setae in the middle placed more posteriorly. Tibiae with setulae in uniform rows, the setae short. Tibial spurs single, 1-1-1, quite longer on hind tibia. Wing having subcosta free, R.4 about one third the length of R.5 and very short while m-cu is oblique. Other characters as in figure 1. Microtrichiae dense but macrotrichiae are absent. Genitalia with basistyles thicker than in *Nervijuncta* and *Calliceratomyia* but dististyles of about the same general shape. Other characters as in figure 2.

Genotype — Neoditomyia colombiana g. n., sp. n.

Note — This genus comprises at present two species, *N. colombiana,* the genotype and *N. andina* sp. n. also described in this paper.

Discussion — The characters which separate *Ditomyiinae* have been the free subcostal vein, the presence of one or more setae on the posterior pronotum and the length of vein R.4. SHAW (1951) showed that the structure of the thoracic sclerites in *Symmerus, Nervijuncta* and *Calliceratomyia* have the same general appearance. Examining specimens of *Rhipidita fusca* Edwards, 1940 we found that they are quite similar to the above mentioned genera as to thoracic sclerites. The thoracic sclerites of *Ditomyia* have not, to our knowledge, been studied. On the other hand *Australosymmerus* (= *Centrocnemis*) show thoracic sclerites quite similar to those of the *Keroplatinae* and thus, does not fit, in this regard, SHAW's definition of the subfamily *Ditomyiinae.*

This being the case, the only character holding for all the genera in this subfamily remains the free subcostal vein. On the other hand, all these genera have two or more of the above mentioned characters such as setae on the posterior pronotum, length of vein R.4 and shape of thoracic sclerites.

Although *Neoditomyia* g. n. does not bear one or two stout setae on the posterior pronotum and has a very short R.4 vein, we place it in this subfamily because it has a free subcostal vein and thoracic sclerites of *Ditomyiinae.*

We take this opportunity to include a key for the genera which at present are included in this subfamily. The key is a modification of the ones given by EDWARDS (1925) and TONNOIR (1929).

KEY FOR THE GENERA OF DITOMYIINAE

1. Cross vein r-m present ..... 2.

—. Cross-vein r-m obliterated by fusion; antenna cylindrical; posterior division of pronotum with a single

	seta; eyes deeply emarginate above antennae and forming a bridge as in *Sciara*	*Nervijuncta* Marshall, 1896.
2.	Basal cell pointed at its distal end, the basal section of Rs. and M.1 being oblique in an opposite direction	3.
—.	Basal portion of Rs., r-m and basal section of M.3 all in a nearly vertical line so that the distal end of the basal cell is truncated; katepisternite without posterior protuberance, pteropleurite reaching the sternal portion	*Australosymmerus* Freeman, 1953.
3.	R.4 slightly longer or quite shorter than the second portion of Rs.	4.
—.	R.4 much longer than the second portion of Rs.; anepisternite and post-notum bare	*Ditomyia* Winnertz, 1846.
4.	Postnotum setose; anepistérnite also setose	5.
—.	Postnotum bare	6.
5.	Ocelli three; tibial spurs 1-2-2; without tufts of setae in front as well as behind anterior spiracle	*Symmerus* Walker, 1848.
—.	Ocelli two; tibial spurs 1-1-1; a tuft of setae present in front as well as behind the anterior spiracle	*Neoditomyia* g. n.
6.	Palpus with two segments; antenna with the flagellar segments produced but not filamentous underneath	*Rhipidita* Edwards, 1940.
—.	Palpus three segmented; antenna with the flagellar segments produced into filamentous expansions underneath	*Calliceratomyia* Lane, 1946.

Neoditomyia andina sp. n.

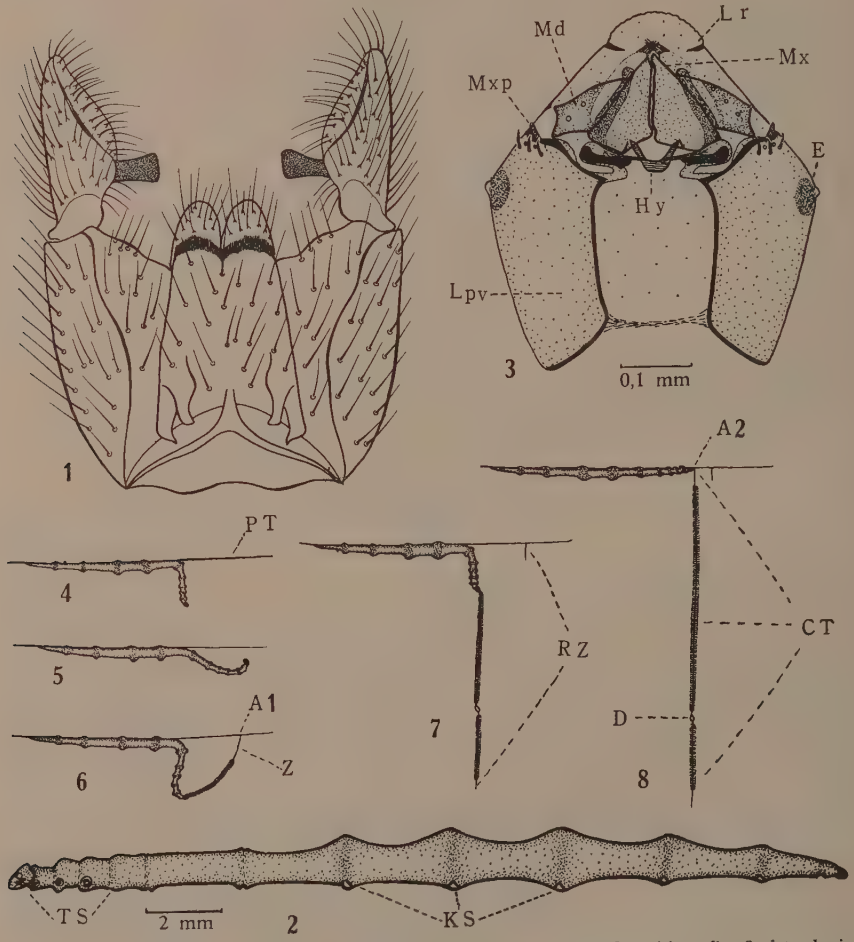
(Figs. 1-8)

Length of body 6 mm; wing 5 mm.

Male — Head: Mouth parts short and blackish. Palpus yellowish, segment I small, globose, II longer and stouter than the others, III and IV elongate. Clypeus small, quadrate, yellowish, covered with brown setae. Eyes slightly emarginate, very sparsely pilose. Frons, yellowish. Antenna with scape and torus flattened, covered with brown setae; flagellum brownish black, the segments more than twice as broad as long, flattened and densely covered with whitish pilosity, last segment nearly as broad as long and of subtriangular shape. Ocellar callus brown, the two ocelli large. Occiput yellowish, covered with brown hairs.

Thorax yellowish. Posterior pronotum with very short anterior setae. Anterior pronotum brown. Propleura blackish. Mesonotum yellowish with three faint and light brown lines converging at the prescutellar region; evenly covered with brown hairs and a tuft of black and long hairs over the root of wing. Scutellum brown with many blackish marginal setae. Postnotum brownish with numerous long and blackish setae. Pleura brownish with setae in front as well as behind the anterior spiracular sclerite, these setae are dense and longish; anepisternite with short setae on the upper margin; pleurotergite with dense setae above.

Legs yellowish brown. Front tibia longer than its femur, basitarsus slightly longer than its tibia. Tibiae with setulae in rows, the setae very short and irregular. Anterior tibia ending in a small comb of a few setae. Tibial spurs 1-1-1. Anterior spur short, the median average while the hind one is very long, the spurs are blackish and hairy. Hind basitarsus two thirds the length of its tibia.



Neoditomyia andina sp. n. — Fig. 1: Male genitalia from a dorsoventral position; fig. 2: lateral view of larva but pigment not drawn (C = pseudopods, TS = thoracic segments); fig. 3: head of larva from ventral position (E = eye, Hy = hypopharynx, Lpv = ventral portion of lateral plate, Lr = labrum, Md = mandible, Mx = maxilla, Mxp = maxillary palpus); figs. 4 to 8: the larva spinning a catching thread (A.1 and A.2 = spots where the larva fastens the catching thread, CT = catching thread, D = mucous drop, PT = parallel thread, RZ = rests of the rending thread, Z = rending thread).

Wing: With yellowish tinge but smoky anteriorly. Setae along the costal and radial veins but media, cubitus and anal veins nude; evenly covered with

longish microtrichiae but devoid of macrotrichiae. Fork of M. about twice as long as in *N. colombiana* sp. n. Cubital and anal veins not reaching wing margin. Haltere yellowish.

Abdomen very long and about four times the length of mesonotum, brownish.

Genitalia (fig. 1): Basistyle with the lobes developed, quite large and fused along the median line. Dististyle in one lobe, subtriangular, strongly pilose and bearing at base and internally a large differentiated seta. Other structures as in the figure.

Female — Unknown.

Pupa — Very similar to *N. colombiana* sp. n., here described. Length 10 mm. Dark brown in colour. It fastens itself to ceiling by two or more threads. Probably the change from larva to pupa takes place in the last web.

Larva — Last stage about 3 cm in length. Boundaries of segments, specially towards the middle of body, strinkingly thickened. Ventral portion and a large part of swellings with dark coloured pigment, the rest of body whitish.

Head (fig. 3): Capsule subtriangular, bearing the eyes at upper portion where there is a protuberance. Mandible without teeth. Maxillae subtriangular. Maxillary palpus minute. Other structures as in the figure.

Thorax (fig. 2): Very short with a spiracle on each division.

Body: Thickened in the middle and apparently with five pairs of pseudopods on segments III to VII. Abdominal segment I small and subquadrate.

Type — Holotype male, registered in our collection under n. 12.678.

Type locality — COLOMBIA, Sierra de la Macarena (south of Villavicencio), Rio Zanza, 400 to 500 m altitude, 22/23-III-1956 (H. Sturm col.).

Bionomics — The junior author made the following observations: During a scientific expedition carried out by relief of the Universidad Nacional de Colombia, Deutsche Forschungsgemeinschaft and the Deutsche Ibero America-Stiftung, to the totally uninhabited Sierra de La Macarena, which extends in front of the Easter Andes, the behaviour of the larvae of this species were observed. They were found in the valleys of the river Zanza and along a small affluent where they could be seen on the lower side of overhanging rocks. Each larva spinned a web formed by two sorts of threads:

1. Threads which were repeatedly ramified, thin, not glutinous and hyaline with their ends fastened to the rocks. They stretched only a few millimeters beneath the covering rock and their course was parallel or in an acute angle with the rocky surface. An adult larva was able to make a web with a diameter of about 15 cm.

2. Threads which are thicker, very glutinous and used for catching. They were fastened by one end to an above mentioned parallel thread while the other end hanged freely down. Their length was between 1 and 11 cm. Details are

shown in fig. 8. Apparently the catching threads consist of a non-glutinous central thread which is covered by a glutinous secretion over most of its length. When the central thread is drawn, its cover produces many small drops of liquid. The larvae support themselves by their whole length, on the parallel thread on most occasions save when they spin a catching string. On this occasion they bend the head and the anterior portion of their body is then placed vertically down. When they are in this position the free anterior portion emits rapid contractions for about 45 seconds (see fig. 4). After this the larva curves its free portion (fig. 5) and fixes a thin and non-glutinous thread which changes after the length of 2 mm to a true catching thread, on a parallel thread. After spinning 5 mm more, the larva stops for a short time secreting a drop of a glutinous fluid (fig. 6). At about this time it then tears the first thin portion and so the thread hangs from the head. In this posture the larva spins the string (fig. 7) and finally draws out a thin portion of about 3 mm in length and cements the completed filament to a parallel thread (fig. 8).

The food of the larvae consists of small insects which are imprisoned by the sticky substance of the catching threads. Most of their prey are *Diptera, Lepidoptera* and, so I believe, *Hymenoptera* also. The larva becomes active by the vibrations of the net due to the struggle of the prey and then crawls, frequently over several ramifications, reaching at last the thread imprisoning the prey. It glides along the catching thread with only a third of its body, drawing it in until the head touches the prey. Before it starts to eat its prey, the larva deposits several drops of mucus on it. When a larva is taken out of its web and placed on a lower portion of the rock, it immediately begins to spin a new thread. It then fastens permanent threads to the ceiling joining them mutually, then the larva prolongs a part of the already spun threads and cuts off any thread which stands in the way. The first catching threads are spun only when the net beneath the ceiling attains a certain size.

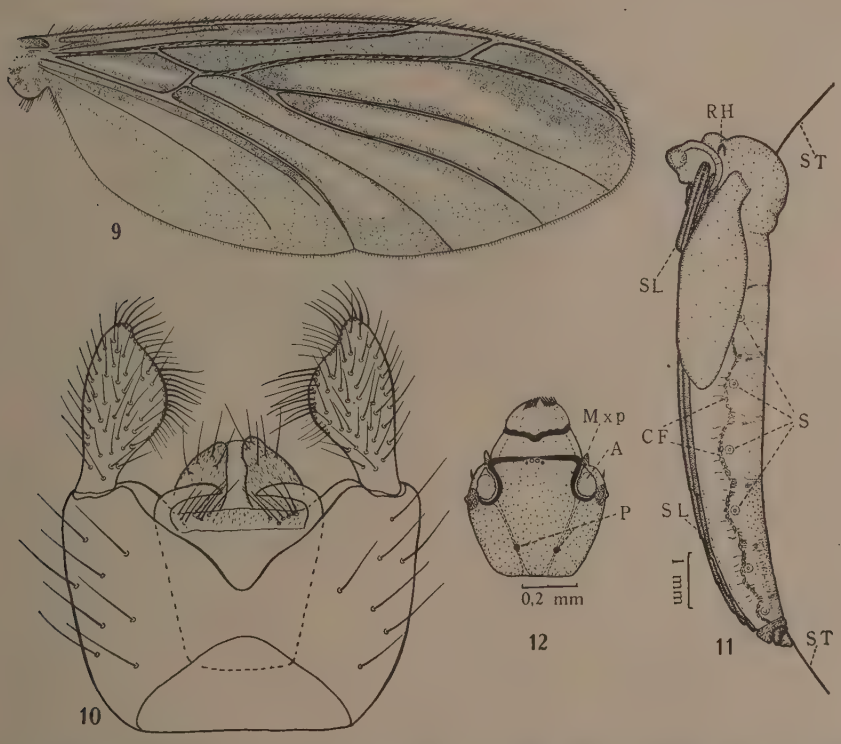
The junior author was not able to note if the larvae are luminous like those of *Arachnocampa luminosa* Skuse and *Platyura fultoni* Fisher but it seems (if the observations made by FULTON are taken in consideration) that they may become luminous during a few hours at night.

Neoditomyia colombiana sp. n.
(Figs. 9-12)

Length of body 8 mm; wing 7 mm. Dry specimen.

Male — Head: Mouth parts blackish brown, porrect. Palpus blackish, four segmented, I longer than broad, II thicker and longer than III, IV the longest but more slender. Clypeus small, quadrate, blackish with black setae. Frons white pruinose below, the insertion of antennae yellowish above. Eyes slightly emarginate by the insertion of antennae. Antenna with brown scape and torus;

flagellum dull blackish, the segments large, flattened, triangular and projecting below, the necks distinct and whitish, last flagellar three segments more elongate while the last one is slender, long and ending in a blunt point; segment covered with dense and short white hairs. Occiput brown in the middle and yellowish on the sides and behind; covered with brown hairs.



Neoditomyia colombiana sp. n. — Fig. 9: Wing; fig. 10: male genitalia from a dorso-ventral position; fig. 11: mature female pupa from lateral view (CF = chitinous fillets, RH = respiratory horn, S = spiracle, SL = leg sheaths, ST = suspending threads); fig. 12: head of larva from dorsal position (A = antenna, Mxp = maxillary palpus, P = pigment spots).

Thorax: Blackish brown. Posterior pronotum hairy but without setae. Anterior pronotum nude. Propleura with black setae. Mesonotum evenly covered with short and black setae, long ones present over root of wing. Scutellum with dense and longish black setae. Postnotum with dense black setae, chiefly posteriorly. Pleura with setae in front as well as behind the anterior spiracular sclerite, these setae are dense, longish and black; anepisternite with short setae on the upper margin; pleurotergite with dense and long blackish setae above.

Legs blackish brown, the front femur slightly lighter. Front tibia longer than its femur, basitarsus about one quarter longer than its tibia. Tibiae with setulae in rows, the setae very short and irregular. Anterior tibia ends in a

comb of closely appressed setae. Tibial spurs 1-1-1, anterior ones short, median average while the hind ones are longest, all spurs are blackish and hairy. Hind basitarsus with regular rows of setae and more than half the length of its tibia.

Wing (fig. 9): Dull blackish but hyaline in the middle. Setae along the costal and radial veins but media, cubitus and anal veins nude; evenly covered with longish microtrichiae but without macrotrichiae. Veins reaching the wing margin except 1st and 2nd anal veins. Costal quite beyond R.5. Haltere blackish.

Abdomen very long and about four times the length of mesonotum, dull blackish brown, thickened at apex.

Genitalia (fig. 10): Basistyle with the lobes developed, large and fused in the median line. Dististyle in a single piece and somewhat resembling those of *Rhipidita* and *Calliceratomyia*. Other structures as in the figure.

Female — Antenna short and about as long as the mesonotum. Flagellum without necks between the segments; segments somewhat quadrate, placed very close together, I elongate but from II to apex they become broader than long, the last segment being slender and pointed. The spurs on fore tibia seem to be absent or very much reduced. Cerci oblong, blackish. Other characters as in the male.

Pupa — Length 10 mm (fig. 11): Dark brown in colour. Head bent down but not applied to the ventral surface of the body. Legs applied to the body and reaching nearly or completely the end of the body. Thorax with very small respiratory horns. Abdominal pleurites bearing a network of fine black chitinous fillets. No setae or striking spins present. Probably the change from larva to pupa takes place in the last web. No cocoon is spinned for pupation. The pupa hangs freely down from two or more threads.

Larva — Similar to that of *N. andina* sp. n. except for the following characters: no striking dark body pigment; the swellings on body are much more inconspicuous; the length of the adult larva is about 4 cm (see figs. 3 and 12).

Types — Holotype male, allotype female, paratypes two males. All specimens with respective pupal pelts. Registered under ns. 12.675 to 12.677. One paratype has been returned to Dr. H. Sturm.

Type locality — Colombia, Resina (western Andes between Garzon and Florencia), 1600 to 2000 m altitude, VI-1956 (H. Sturm col.).

Bionomics and notes — We have selected this species as the genotype of the genus *Neoditomyia*.

The larvae of this species were found besides under overhanging rocks and also beneath dead trunks which had fallen accross brooks. They have a similar behaviour to those of *N. andina* in making their webs but an outstanding difference was noted in their manner of spinning the catching threads. Usually they are spun in the manner already described but the larvae also draw out such threads without fastening them previously to a parallel thread. These

threads always have a round drop of mucus at the lowermost end. Elsewhere a detailed description of the behaviour of both the above mentioned species will be made in greater detail.

Acknowledgements — We wish here to thank Dr. Paul Freeman of the British Museum (Natural History) who not only made possible the present collaboration but gave us valuable information. Figures 1, 9 and 10 were drawn by Mr. E. B. Ferraz while the others were made by the junior author.

BIBLIOGRAPHY FOR THE LARVAE*

Cook, O. F., 1913, Web-spinning fly larvae in Guatemalan caves. *J. Wash. Acad. Sci.*, 3: 190-193.

Fulton, B. B., 1941, A luminous fly-larva with spider traits. (*Diptera, Mycetophilidae*). *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 34 (2): 289-302.

Hudson, G. V., 1926, The New Zealand glow-worm *Bolitophila (Arachnocampa) luminosa*: Summary of observations. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, 18:667-670.

* The literature referring to the genera of *Ditomyiinae* has not been included as it is of easy access.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 209-217
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

ANOTHER BRAZILIAN SPECIES OF "TAPHIUS" (Pulmonata, Planorbidae) [1]

W. LOBATO PARAENSE
Instituto Oswaldo Cruz,
Rio de Janeiro, D. F.

and

NEWTON DESLANDES
Instituto Nacional de Endemias Rurais,
Belo Horizonte, Minas Gerais

(With 8 text-figures)

In September, 1956, we examined a sample of a planorbid from Guaíba, State of Rio Grande do Sul, brought to this laboratory by our assistant, Angelo Machado. Whereas the shell of that planorbid showed only minor differences from that of *Taphius inflexus* [2], a species widely distributed in that region, the differences in their genital organs were remarkable enough to justify their separation into two distinct species. In October, 1957, the senior author made additional collections of that planorbid in several localities of Rio Grande do Sul (Pôrto Alegre, Gravataí, Santo Antônio, Tramandaí and Guaíba).

The shell of this planorbid answers to the description and figures, presented by LUCENA (1956), of a species collected by Mr. Enio Luz in Morretes, State of Paraná, and determined by BECQUAERT as *Tropicorbis philippianus* (Dunker, 1848). In January, 1958, the junior author, accompanied by Mr. Enio Luz, made a collection of this snail in the same breeding place where the specimens sent to LUCENA had been obtained. The anatomy of these specimens agrees perfectly with that of the planorbid from Rio Grande do Sul.

The original description of *Planorbis philippianus* is as follows (DUNKER, 1848):

16. *P. philippianus* Dkr. Pl. testâ discoideâ, subnitidâ, tenuissimè obsoletèque striatâ, pallidé corneâ, diaphanâ, suprà planatâ, medio impressâ, infrà parùm concavâ; anfractibus senis rotundatis sensim crescentibus; aperturâ sobrotundâ, subobliquâ. Diam. max. 5 1/2'''; alt. 1 1/4'''. Patria Cochabamba in Boliviâ".

---

[1] Received for publication February 5, 1958.

Work from the Instituto Oswaldo Cruz and the Instituto Nacional de Endemias Rurais, aided by the Conselho Nacional de Pesquisas.

[2] As demonstrated recently (PARAENSE & DESLANDES, 1958), *Taphius inflexus* (Paraense & Deslandes, 1956) is a synonym of *Taphius peregrinus* (Orbygny, 1835).

In BAKER's (1945) monograph, some shells of *Tropicorbis philippianus* from Bolivia, Paraguay and Argentina are figured in Plates 130 and 135. However, the possibility that at least a part of BAKER's specimens belong to *Taphius peregrinus* cannot be safely excluded.

Additional references to *Tropicorbis philippianus* are made by HAAS (1955) in Cochabamba, and by BECQUAERT (cited by LUCENA, 1956) in Paraguay, Argentina and the Brazilian States of Mato Grosso and Ceará (Pacotí).

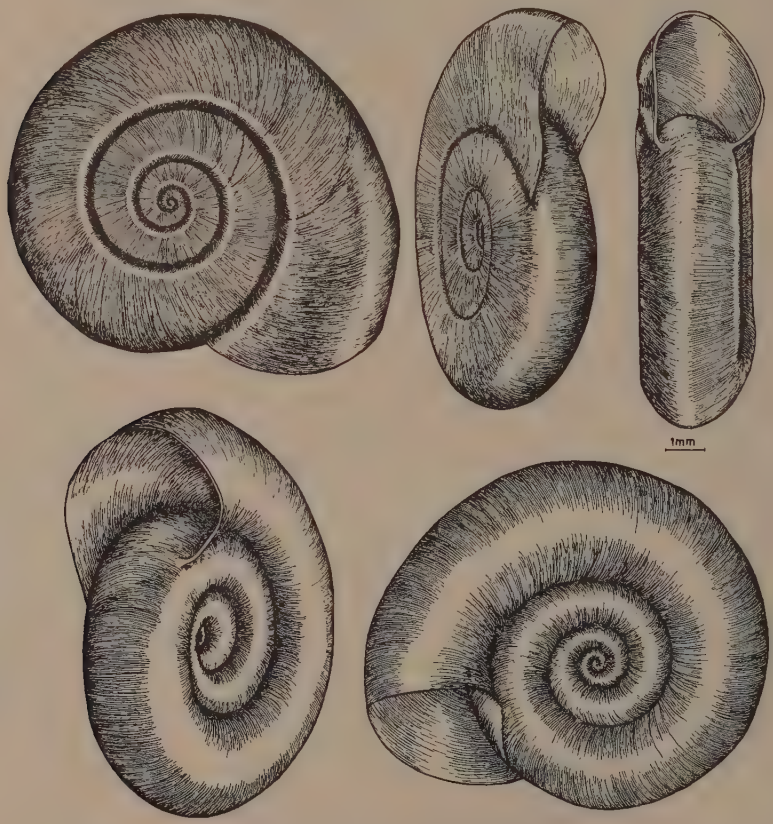


Fig. 1 — Shell of *T. philippianus*.

As the anatomy of the topotypic *Planorbis philippianus* is unknown, we cannot affirm that the planorbid studied in this paper really belongs in that species. However, we adopt that specific name for our specimens, since a sample of them was taken from the same population from Morretes, referred to as *Tropicorbis philippianus* by LUCENA (1956), according to BECQUAERT's determination. From the generic standpoint, we consider it as a member of *Taphius*, in accordance with the views exposed by PARAENSE (1958).

The following description is based on 26 shells and 10 dissected specimens from Guaíba, and 32 shells and 10 dissected specimens from Morretes. One specimen from each locality was fixed in Bouin, embedded in paraffin and sectioned serially for histological examination. Ten shells from Morretes (no. 7638), and ten shells and three dissected specimens from Guaíba (no. 7637) were deposited in the collection of the Instituto Oswaldo Cruz.

SHELL
(Fig. 1)

The shell is thin, semitranslucent, somewhat polished, brownish, finely obliquely striated, and has about 5 whorls in the largest specimens. The whorls increase slowly. The right side is flattened; all the whorls are plainly visible on it, and separated by a shallow suture. The umbilical region is moderately deep. The left side is broadly concave; on this side the whorls are subangulate and the suture is deep. The periphery is broadly subangulate. The aperture is a little dilated, oblique and heart-shaped. Measures of the largest specimens: from Guaíba, 11 mm in diameter, 3 mm in width, 5 whorls; from Morretes, 8.5 mm in diameter, 2.5 mm in width, 5 whorls.

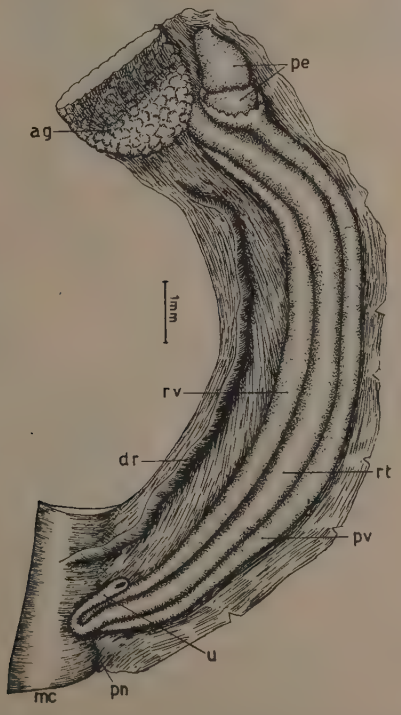


Fig. 2 — Pallial organs (ag = albumen gland, dr = dorsolateral ridge, mc = mantle collar, pe = pericardium, open to show the heart, pn = portion of pneumostome, pv = pulmonary vein, rt = renal tube, rv = renal vein, u = ureter).

ANIMAL

The pigmentation of the exposed parts of the body is more or less dark gray. The mantle pigment is distributed into dark patches, visible through the shell. The pseudobranch is simple, thin and flat. A rectal ridge extends from the pseudobranch into the pulmonary cavity, disappearing at the level of the stomach.

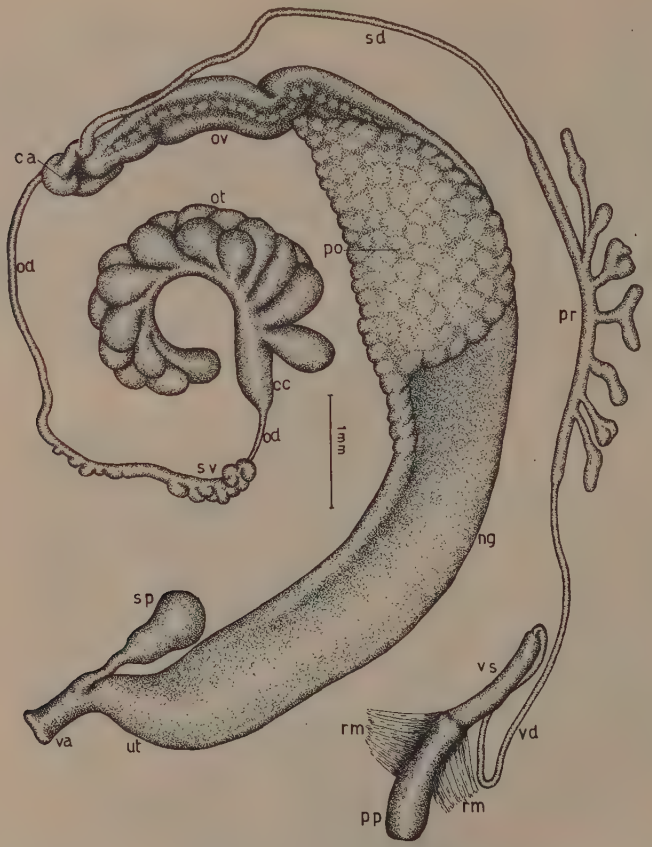


Fig. 3 — Genital organs, specimen with six prostate diverticula (ca = carrefour, cc = collecting canal of ovotestis, ng = nidamental gland, od = ovisperm duct, ot = ovotestis, ov = oviduct, po = pouch of oviduct, pp = preputium, pr = prostate duct and diverticula, rm = retractor muscles, sd = sperm duct, sp = spermatheca, sv = seminal vesicle, ut = uterus, va = vagina, vd = vas deferens, vs = vergic sac).

PALLIAL ORGANS
(Fig. 2)

There is no renal ridge. A dorsolateral ridge, facing the rectal one, runs along and at some distance from the left side of the renal vein.

GENITAL ORGANS
(Figs. 3-7)

The ovotestis is composed of numerous sac-like diverticula, which are almost always simple and less frequently bifurcate. The diverticula empty into the ventral collecting canal, which projects anteriorly and then narrows suddenly, continuing into the extremely thin ovisperm duct. The ovisperm duct has a shorter proximal segment and a much longer distal one, between which the seminal vesicle is placed. Whereas in the other species of *Taphius* so far studied by us the seminal vesicle is highly convolute and beset with numerous well developed and elongate diverticula, in the present species it is only sinuous and the diverticula look like small rounded expansions of the main duct.

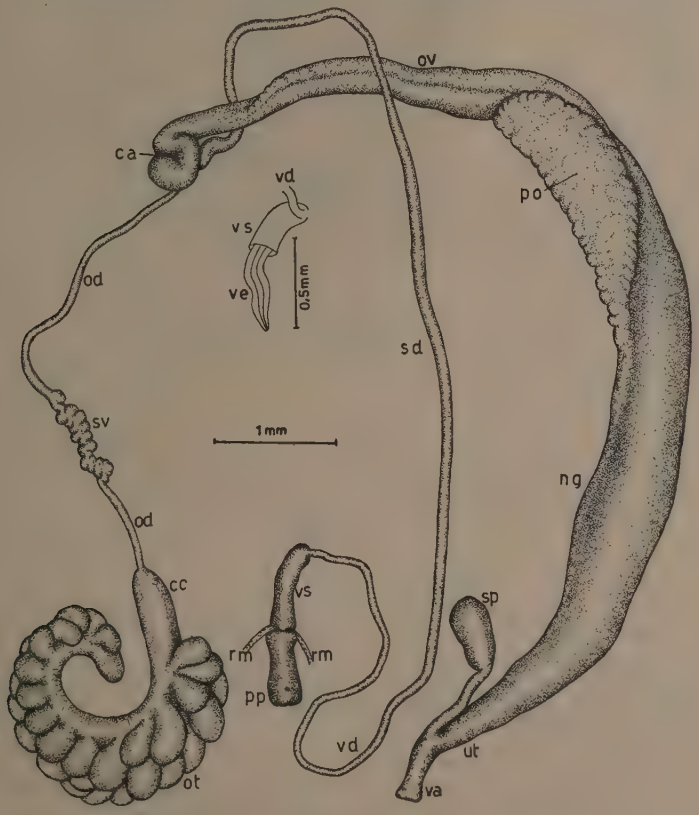


Fig. 4 — Genital organs, specimen with no prostate diverticula (ve = verge; other indications as in fig. 3).

The oviduct is a little shorter than the nidamental gland and uterus, taken conjointly, and empties into a large swelling, the pouch of the oviduct, which embraces at the same time the cephalic end of the oviduct and the caudal end of the nidamental gland. The vagina is tubular and smooth. In some specimens,

however, a more or less distinct vaginal pouch may be seen laterally, above the attachment of the spermathecal duct, as shown in figs. 5 and 6. The spermatheca has a pear-shaped body and a narrow duct about as long as the body.

The sperm duct, long and flexuous, swells a little, shortly before receiving the prostate diverticula.

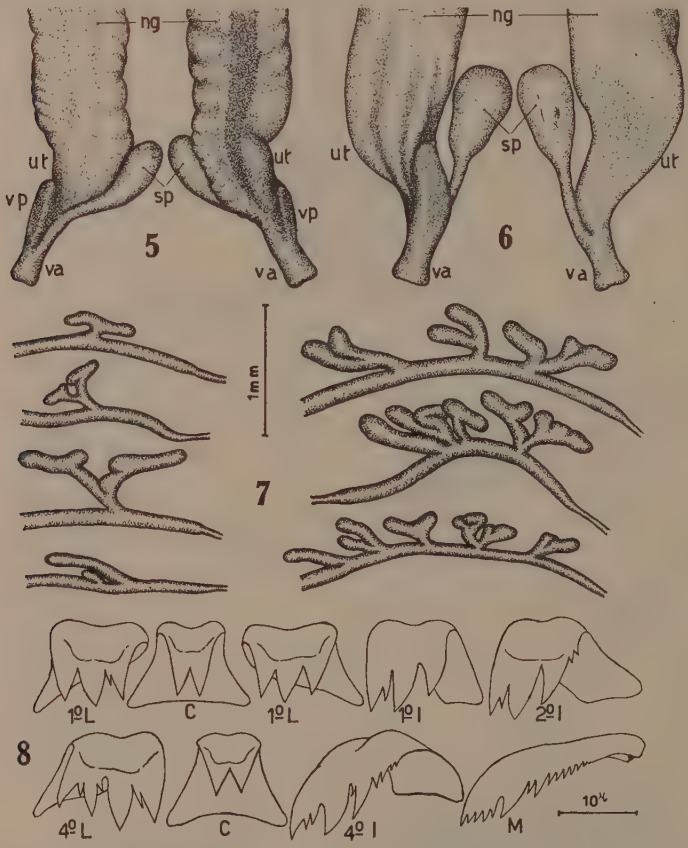


Fig. 5 — Female copulatory organs in one specimen with vaginal pouch — Fig. 6: The same in one specimen with rudimentary vaginal pouch (ng = nidamental gland, sp = spermatheca, ut = uterus, va = vagina, vp = vaginal pouch; fig. 7: variation of prostate gland; fig. 8: radula teeth (C = central, I = intermediate, L = lateral, M = marginal).

The prostate gland is the most characteristic organ in the present species. It is composed of a small number of diverticula, ranging from zero to six in the examined material. Two specimens from Morretes and one from Guaíba (fig. 4) showed no prostate diverticula. In such cases, the functional prostate is represented by the moderately expanded segment of the sperm duct which, in the diverticulate specimens, corresponds to the prostate duct. Since the prostate duct shows the same general histological characters as the prostate diverticula

(see PARAENSE & DESLANDES, 1955a, p. 93 and Plate 2, fig. 4), it may be postulated that, in the absence of the diverticula, the duct will be able to fulfill the functions of the whole prostate. Some aspects of the variation in shape and branching pattern of the prostate diverticula are shown in fig. 7.

The prostate duct continues into the vas deferens, which ends on the caudal extremity of the vergic sac. The vergic sac is about as long as the preputium. The verge, nearly as long as the vergic sac, is unarmed, slender and cylindric. It has a pointed end and is traversed by an axial sperm canal, which opens by a terminal outlet. Histologically, it shows the following formations, arranged concentrically: the central ciliate sperm canal, enveloped by a very thin circular layer of muscular fibers, surrounded by a well developed connective tissue and by an external coat of circular muscle; the whole is lined by the visceral epithelium.

The histological arrangement of the verge in the examined material seems to differ a little from that observed in the other planorbids so far studied by us (*Taphius*: *glabratus, nigricans, centimetralis, janeirensis, andecolus* and *peregrinus,* this latter including the synonymic forms *havanensis, maya, orbiculus, retusus, liebmanni* and *inflexus; Drepanotrema*: *anatinum, melleum, depressissimum* and *cimex*). Whereas in all those species, except *centimetralis,* there are two muscular coats under the visceral epithelium (three in *centimetralis*), in *philippianus* we found only one muscular coat, corresponding to the outermost one of the other species. As the histologically examined specimens were not full-grown, measuring 5 mm in diameter, we cannot exclude (although we find it improbable) the possibility that an inner muscular coat may develop in the larger specimens.

The preputium is not much wider than the vergic sac. It is separated internally from the vergic sac by a muscular diaphragm and has two longitudinal muscular pilasters. Two main retractor muscles are inserted in the caudal portion of the external wall of the preputium.

JAW AND RADULA

The jaw is somewhat T-shaped, consisting of a wider upper piece, vertically striated, and two narrower lateral pieces. The radula formula, of course, varied according to the size of the specimens. The following characteristics were observed in 5 specimens from each locality (fig. 8): radula formula, 16-1-16 to 19-1-19; horizontal rows, 93 to 110; central tooth bicuspid; 4 to 6 laterals, 3 to 5 intermediates, 8 to 11 marginals.

DIAGNOSIS BETWEEN *T. PHILIPPIANUS* AND THE OTHER BRAZILIAN SPECIES OF *TAPHIUS*

T. philippianus differs from the other Brazilian *Taphius* previously studied by us (*T. glabratus,* 1955a; *T. nigricans,* 1955b; *T. centimetralis,* 1955c; *T. janeirensis,* 1956a; *T. inflexus* = *T. peregrinus,* 1956 b) in the following characters:

Shell — The adult shell of *philippianus* is much smaller than the adult ones of *glabratus* and *nigricans*. Its right side tends to be flatter than in the young *glabratus* and *nigricans*, and adult *centimetralis*, *peregrinus* and *janeirensis*. The left side is more or less concave in all those species. The shell tends to be narrower in *philippianus* than in the other species, except *janeirensis*. This latter, however, shows a marked deflection of the outer whorl to the left and an apertural armature consisting of usually six lamellae.

Anatomy — As referred to above, the prostate of *philippianus* is much different from that of the other species. The prostate diverticula are less numerous (up to six in the examined material) or even absent, markedly spaced and poorly branched. Moreover, the present species differs from *T. glabratus* in the absence of a renal ridge, or the pigmented line preceding it in the young specimens; from *T. nigricans* in the absence, in most specimens, of a well developed vaginal pouch, and in the branching pattern of the ovotestis diverticula, which are trifurcate or, rarely, bifurcate in *nigricans*, and simple or, rarely, bifurcate in *philippianus;* from *T. centimetralis* in the absence of a vaginal corrugation; from *T. janeirensis* in the much shorter vergic sac and spermatheca; and from *T. peregrinus* in the absence of a vaginal pouch in most specimens, besides the above mentioned characteristics of the prostate.

Acknowledgements — We are indebted to Prof. Irajá Damiani and to Drs. Eugenio Gruman and Celso Jaeger, from the Instituto de Ciencias Naturais of Rio Grande do Sul, to Dr. Eduardo Corrêa Lima, from the Faculdade de Medicina, Universidade do Paraná, and to the medical students, Enio Luz and Angelo Machado, for their helpful contribution in getting the material studied in this paper.

SUMMARY

The planorbid species, *Taphius philippianus* (Dunker, 1848), is studied. The following of its characters are considered as having diagnostic significance:

Shell up to about 11 mm in diameter and 3 mm in width, right side flattened, left side broadly concave. Absence of ridge on the renal tube. Ovotestis diverticula generally simple, less frequently bifurcate. Seminal vesicle sinuous, not highly convolute, and with rounded diverticula. Prostate diverticula from zero to six in number, spaced and poorly branched. Vergic sac about as long as the preputium and about as wide. Vagina short, showing in some specimens an ill developed lateral swelling above the attachment of the spermathecal duct. Spermatheca rounded or pear-shaped, about as long as the spermathecal duct.

REFERENCES

Baker, F. C., 1945, *The molluscan family Planorbidae*. xxxvi + 530 pp., Univ. Illinois Press, Urbana.

Dunker, G., 1848, Diagnoses specierum novarum generis Planorbis collectionis Cumingianae. *Proc. Zool. Soc. London*, pp. 40-43.

Haas, F., 1955, On some small collections of inland shells from South America. *Fieldiana, Zool.*, 34 (35): 361-387.

Lucena, D. T., 1956, *Resenha sistemática dos planorbídeos brasileiros.* 104 pp., Graf. Edit. Recife S. A., Recife.

Paraense, W. L., 1958, The genera *Australorbis, Tropicorbis, Biomphalaria, Platytaphius* and *Taphius. Rev. Brasil. Biol.,* 18 (1): 65-80.

Paraense, W. L. & Deslandes, N., 1955a, Observations on the morphology of *Australorbis glabratus. Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* 53 (1): 87-103.

Paraense, W. L. & Deslandes, N., 1955b, Observations on the morphology of *Australorbis nigricans. Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* 53 (1): 121-134.

Paraense, W. L. & Deslandes, N., 1955c, Studies on *Australorbis centimetralis.* I. Morphology, in comparison with *A. glabratus. Rev. Brasil. Biol.,* 15 (3): 293-307.

Paraense, W. L. & Deslandes, N., 1956a, Observations on *Australorbis janeirensis. Rev. Brasil. Biol.,* 16 (1): 81-102.

Paraense, W. L. & Deslandes, N., 1956b, *Australorbis inflexus* sp. n. from Brazil. *Rev Brasil. Biol.,* 16 (2): 149-158.

Paraense, W. L. & Deslandes, N., 1958, Note sur *Drepanotrema anatinum* et *Taphius peregrinus. J. Conchyl.,* in press.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 219-222
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

CONSANGUINEOUS MARRIAGES IN BRAZIL. III. A note on the relation of inbreeding with deaf-mutism, mental retardation and speech defects [1]

NEWTON FREIRE-MAIA
Faculdade de Filosofia, Curitiba, Paraná

It is well known from mathematical (Dahlberg, 1929, 1948; Hogben, 1946) and from field studies (Boyd & Boyd, 1941; Spuhler & Kluckhohn, 1953) that the inbreeding rates observed in human societies do not cause significant departures from the Hardy-Weinberg equilibrium, regarding common genetic traits. However, for rare traits, like the majority (but *not* all) of the so-called recessive hereditary diseases, there is theoretical and factual information showing that inbreeding plays an important role in their frequency. As a matter of fact, the detection of the incidence of rare genetic traits in offspring of consanguineous couples is one of the tools developed by human geneticists for genetic analysis.

Some of the Brazilian coefficients of inbreeding (around 0.015) are the highest so far detected in any contemporary human population (Freire-Maia, 1952, 1954, 1957b, c,), being approximated only by a few found in Japanese, Israeli, and Indian populations (Kida *et al.*, 1949; Neel et al., 1949; Sanghvi, 1954; Sanghvi *et al.*, 1956; Goldschmidt & Ronen, 1956). These high coefficients produce negligible effects on common recessive traits but not on the rare traits. Suffice it to say that recessive characteristics with gene frequencies equal to 0.01 will be almost twice as common under the action of the coefficient 0.01 as in models assuming no inbreeding or low inbreeding rates at the level of 0.001. The same effect is naturally to be expected under a situation of increased mutation rate. This problem has been already discussed elsewhere (Freire-Maia, 1957a).

No extensive data are known on the actual effect of inbreeding on Brazilian populations. For genetic and exogenous deaf-mutism (DM) as a whole, however,

[1] Received for publication November 27, 1957.

This work has been supported in part by grants made by the Rockefeller Foundation and Conselho Nacional de Pesquisas, and has been prepared in part at the Department of Human Genetics of the University of Michigan, when the author was holding a fellowship from the Rockefeller Foundation.

some preliminary information has been published by Aguiar & Freire-Maia (1953) regarding the total consanguinity detected among the parents of children that have attended courses at the Pestalozzi Institute, in Belo Horizonte, Minas Gerais, a state institution for the education of subnormal children. The figure found (33%) is composed of the following unpublished data (Table I). Almost all the children were born in the State of Minas Gerais, where the condition has a prevalence of 1.54×10^{-3} and about half of them were born in Belo Horizonte, the State Capital.[2] A rough estimate of the frequency of first cousin marriages in a corresponding sample of the general population leads to about 3.5 per cent, a figure only 1/6 that found in the files of the Pestalozzi Institute (20.9%). In the 23 families with at least one deaf-mute, the frequency of deaf-mutes has been found to be 24% (28 out of 116). The mean number of children per family was 5.0.

TABLE I

Incidence of consanguineous marriages among the parents of three kinds of defective children (data from the Pestalozzi Institute, Belo Horizonte, MG)

Consanguineous marriages	Deaf mutism (N* = 43)		Mental retardation (N = 184)		Speech difficulty + + Speech defect (N = 57)	
	n	%	n	%	n	%
UNi + ANe**.....	0	0	1	0.55	0	0
First cousin.....	9	20.93	14	7.61	4	7.02
1 1/2 cousin.....	3	6.98	4	2.17	3	5.26
2nd cousin.....	2	4.65	3	1.63	4	7.02
TOTAL.....	14	32.56	22	11.96	11	19.30

* — N = total number of defective children.
** — Uncle-niece + aunt-nephew.

Figures obtained from the Paulista Institute of Deaf-mutes, of São Paulo, SP, and referring to 1.077 children also presenting genetic and exogenous deaf-mutism, and received from 1929 to about 1953, revealed that 3.44% (37 deaf-mutes in 22 sibships) were children of "cousin" marriages and 0.74% (8 deaf-mutes in 3 sibships) were children of UNi+ANe. The total (4.18%) as well as the UNi + ANe frequency are higher than those estimated for the general population from 1929 to 1953, even making allowance for the fact that a fraction of the deaf-mutes came from other States with higher inbreeding rates. In the 25 families with consanguineous parents just referred to, 37.5% of the children

[2] This datum as well as those to be presented below have been obtained through the 1940 census (Mortara *et al.*, 1948).

were deaf-mutes, a higher figure than that found in the mixed sample from Minas Gerais. The mean number of children per family is 5.1. The prevalence of the condition in the State of São Paulo (0.58×10^{-3}) is roughly 1/3 of that in Minas Gerais.

The highest frequency of deaf-mutism in Brazil is found in the central State of Goiás (6.25×10^{-3}), where it is associated with a high prevalence of goiter (Frota-Pessoa & Filgueiras, manuscript). These authors detected, however, a higher incidence of first cousin marriages among the parents of deaf-mutes than in the general population.

In the Pestalozzi Institute, we obtained also some data on two other general conditions, namely "mental retardation" (MR) and "speech difficulty + speech defects" (SD) (Table I). Inbreeding rates also appear higher among the parents of children presenting these traits than in the general population.

Unfortunately we do not know the inbreeding rate for the general population, hence the significance of the deviations cannot be determinated.

It is a pleasure to acknowledge Drs. James V. Neel, William J. Schull and James N. Spuhler for discussions in connection with the preparation of a preliminary draft of this paper. My thanks are also due to Dr. O. Frota-Pessoa for reading the final draft.

I am specially indebted also to Mrs. Ester Assunção, director of the Pestalozzi Institute; to Mrs. Francisca Helena Furia, director of the Paulista Institute of Deaf-Mutes; and to Mr. Lineu Freire Maia and Mrs. Wanda Aguiar Horta.

SUMÁRIO

Dados obtidos em Minas Gerais relativamente à freqüência de casamentos consanguíneos entre os pais de três grupos de crianças portadoras de surdo-mudez, retardo mental e dificuldade ou defeito de pronúncia, revelaram um excesso em relação à população geral. Em São Paulo, constatou-se, para a primeira anomalia, um quadro semelhante ao encontrado em Minas.

REFERENCES

Aguiar, W. C. & Freire-Maia; N., 1953, Nota sôbre algumas características hereditárias na espécie humana. *Ciência e Cultura*, 5: 203.

Boyd, W. C. & Boyd, G. G., 1941, Blood groups and inbreeding in Syria. *Amer. J. Phys. Anthrop.*, 28: 319-330.

Dahlberg, G., 1929, Inbreeding in man. *Genetics*, 14: 421-454.

Dahlberg, G., 1948, *Mathematical methods for population genetics*, 182 pp., Karger, Basle.

Freire-Maia, N., 1952, Frequencies of consanguineous marriages in Brazilian populations. *Amer. J. Human Gen.*, 4: 194-203.

Freire-Maia, N., 1954, Coefficient of inbreeding in some Brazilian populations. *Proc. IX Int. Congr. Gen.* (*Caryologia*, suppl. vol.): 923-924.

Freire-Maia, N., 1957a, Effect of inbreeding levels of populations on incidence of hereditary traits due to induced recessive mutations. *In* "Effect of radiation on human heredity", World Health Organization, Geneva, 168 p. (cf. pp. 151-156).

Freire-Maia, N., 1957b, Inbreeding levels in different countries. *Eug. Quart.*, 4: 127-138.

Freire-Maia, N., 1957c, Inbreeding in Brazil *Amer. J. Human Gen.*, 9: 284-298.

Frota-Pessoa, O. & Filgueiras, P., Surdo-mudez e bócio em Goiás (manuscript).

Goldschmidt, E. & Ronen, A., 1956, The rate of consanguinity in the communities of Israel. *Proc. 2nd meeting Israel Gen. Circle* (*Bull. Res. Counc. Israel*, 5 B: 317-318).

Hogben, L., 1946, *An introduction to mathematical genetics*. 414 pp., W. Norton and Co., New York.

Kida, F., Kanokogi, K. & Kogima, T., 1949, An investigation on consanguineous and affinal marriages. *Iden (Heredity)*, 3: 135-139 (In Japanese).

Mortara, G., Carvalho, A., Barros, E. T. & Etrog, J., 1948, *Os surdos-mudos no Brasil segundo o censo demográfico de 1.º de Setembro de 1940*. 30 p., Serviço Gráfico do Inst. Brasil. de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro.

Neel, J. V., Kodani, M., Brewer, R. & Anderson, R. C., 1949, The incidence of consanguineous matings in Japan with remarks on the estimation of comparative gene frequencies and the expected rate of appearance of induced recessive mutations. *Amer. J. Human Gen.*, 1: 156-178.

Sanghvi, L. D., 1954, Genetic diversity in the people of Western India. *Eug. Quart.*, 1: 235-239.

Sanghvi, L. D., Varde, D. S. & Master, H. R., 1956, Frequency of consanguineous marriages in twelve endogamous groups in Bombay. *Acta genetica*, 6: 41-49.

Spuhler, J. N. & Kluckhohn, C., 1953, Inbreeding coefficients of the Ramah Navajo population. *Human Biol.*, 25: 295-317.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 223-232
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

OBSERVAÇÕES SÔBRE O TROPISMO DO MIRACÍDIO DE "SCHISTOSOMA MANSONI" PELO MOLUSCO "AUSTRALORBIS GLABRATUS" [1]

KURT KLOETZEL
Faculdade de Medicina, São Paulo

(Com duas figuras no texto)

A atração exercida pelo molusco hospedeiro intermediário em relação ao miracídio do esquistossomo é ainda um fenômeno um tanto obscuro e sôbre o qual poucos dados encontramos na literatura. Além do interêsse teórico que possa apresentar, o estudo dêste aspecto do ciclo do helminto lançará luz sôbre certos pontos desconhecidos da epidemiologia; provada a existência de um tropismo ativo e eficiente entre a larva e o molusco poder-se-ia antecipar que, não sòmente focos de elevada concentração do hospedeiro e intensa poluição teriam importância, mas densidades baixas de miracídios e moluscos poderiam igualmente perpetuar um foco.

Foi êste problema que chamou a nossa atenção e que resolvemos estudar; além de querer determinar a existência ou não dêste tropismo, interessavamonos em verificar a possibilidade de dificultar ou mesmo impedir o encontro de larva e hospedeiro.

Conseguimos uma primeira aproximação do problema observando debaixo da lupa o comportamento das larvas na presença do *A. glabratus*. Ao introduzir-se n'água o molusco notamos que o movimento dos miracídios, em linha reta e grande velocidade, aparentemente não é alterado, sendo levados pela simples casualidade de seu trajeto até a proximidade do hospedeiro. Aí seu comportamento muda: diminuem a velocidade e, às vêzes, estacam, curvam o corpo, rodopiam como em busca de algo que pressentem. Perdem a iniciativa para novas excursões pela placa e ficam pelas imediações. Pouco a pouco a concentração de larvas em torno do molusco se eleva, ultrapassando em muito a densidade de outros pontos da placa. Um ou outro miracídio é visto penetrar; número muito

[1] Recebido para publicação a 5 de fevereiro de 1958.
Trabalho do Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo.

mais elevado fixa-se provisòriamente, mais tarde volta a circular em torno. O rastro deixado pelo molusco sôbre o fundo do vidro é, igualmente, objeto de curiosidade e fica cercado de larvas. Removendo-se o molusco, não termina o fenômeno: no lugar onde estivera continuam os miracídios a rodopiar, ativamente procurando algo.

Estas observações preliminares parecem-nos falar a favor da existência de um tatismo ativo, que só se faria sentir, contudo, nas proximidades imediatas do hospedeiro intermediário. É esta a opinião de FAUST & HOFFMAN (1). Também LUTZ (2) é dêste parecer, lembrando ainda que esta atração parecia depender do tamanho do molusco. É natural que um quimiotatismo, se fôr provado a sua existência, deva depender da quantidade de substância ativa lançada n'água; esta quantidade estará vinculada ao volume do molusco.

ABDEL-MALEK (3) nega a existência de um quimiotatismo, afirmando que qualquer corpo estranho colocado no aquário é imediatamente atacado. WRIGHT (4) considera êste um problema ainda não resolvido; cita MATTES (1936), que verificou larvas de *Fasciola hepatica* atacando qualquer animal de corpo mole, bem como NEUHAUS (1941), autor que responsabiliza pela atração as correntes provocadas pelos cílios da superfície do molusco, sendo de parecer que o verdadeiro quimiotropismo só age na circumvizinhança do hospedeiro.

A fim de sustentar as nossas observações preliminares em dados concretos, decidimos efetuar contagens da concentração de larvas nas proximidades do objeto cuja "atração" queríamos determinar, bem como de pontos remotos dêste. Desde o início sabíamos que este método poderia resolver apenas um dos pontos-chaves do problema; conseguiríamos provar se o objeto exercia atração sôbre as larvas que se encontravam em sua vizinhança, sem, contudo, poder elucidar o mecanismo que os levara até aí. Sem dúvida será dificílimo decidir entre acaso e atração à distância e não encontramos, no momento, nenhum método experimental que permita a elucidação dêste mecanismo.

MATERIAL E MÉTODOS

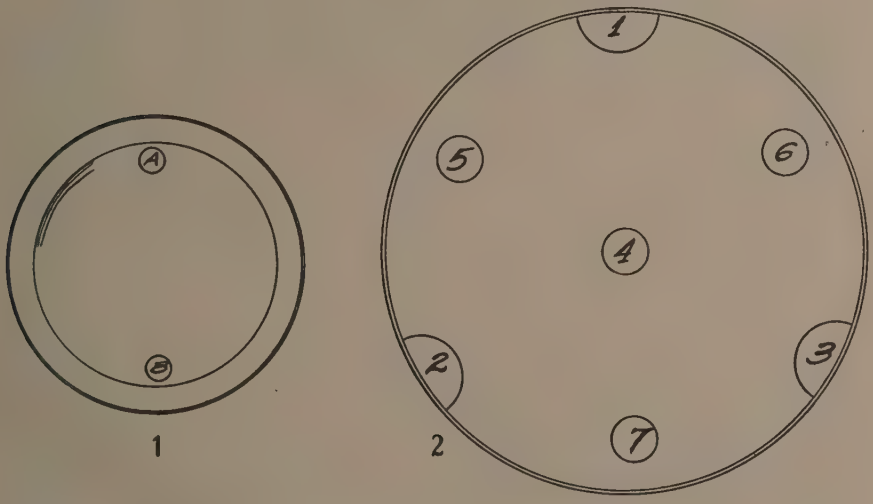
Os ovos de S. *mansoni* foram obtidos das fezes de duas pacientes altamente infectadas; as fezes de uma delas, senhora procedente do norte de Minas Gerais, foram empregadas para as experiências da série A; a outra paciente, natural de Alagoas, forneceu material para as séries B e C. A consistência das fezes variava de dia para dia, bem como a sua riqueza em ovos, vitalidade dos miracídios e variabilidade dos ovos. Este fato deixava antever resultados experimentais pouco homogêneos, o que, surpreendentemente, não se deu.

As fezes eram esmagadas, filtradas através de gaze e submetidas repetidas vêzes à sedimentação espontânea. O número de sedimentações dependia da turvação do sobrenadante, tendo sido verificado desde as primeiras experiências que a riqueza em detritos diminuia extraordinàriamente o rítmo de eclosão e vitalidade dos miracídios. A sedimentação era realizada no escuro e durava cêrca de

uma hora. O sedimento era diluido e exposto durante hora e meia à luz e ao calor. Utilizavamos exclusivamente água de torneira. Com duas exceções, as fezes foram utilizadas no dia de sua eliminação.

Os moluscos usados eram *A. glabratus* criados em laboratório e descendentes de exemplares recebidos, em 1954, de Sergipe. Eram conservados em aquários com areia e vegetação, a sua vitalidade sendo aparentemente normal. Eram alimentados com cenoura crua. A água dos aquários era de torneira.

Notamos que os miracídios de fezes diarréicas, mesmo quando estas eram eliminadas poucas horas antes da experiência, eram de forma globosa, com movimentos lentos e aparentemente de vida curta, ao passo que fezes consistentes eram ricas em ovos viáveis, as larvas de grande vitalidade. Alguns moluscos, mesmo quando expostos a grande número de larvas, continuavam a locomover-se normalmente durante a observação, outros havendo que recolhiam-se à concha logo após a exposição, devendo admitir-se que fôsse pequena, a partir dêste momento, a sua atração pelas larvas. Além disso, o trabalho de Maldonaldo & Acosta-Matienzo (5) já nos prevenira da individualidade do hospedeiro intermediário, havendo exemplares aparentemente "pouco simpáticos" aos miracídios. Por êste motivo antecipavamos resultados discordantes em nossas experiências.



RESULTADOS EXPERIMENTAIS

SÉRIE A (Vide figura 1).

Em vidros de relógio de 10 cm de diâmetro introduziamos cêrca de 25 cc de uma suspensão de miracídios. Depois de agitado o líquido retiravamos, com uma pipeta, volume padrão (0,5 cc) e efetuavamos a contagem das larvas, sob fraco aumento microscópico (x6); assim era determinada a densidade média de

miracídios. Em seguida colocavamos no ponto A um molusco de 3-6 mm de diâmetro; quando êste se afastava do pequeno círculo que lhe era reservado, era imediatamente recolocado. Via de regra a sua atividade era maior nos primeiros 5 minutos da experiência, sendo mais raras estas manipulações à medida que o tempo passava.

Decorridos 15 minutos retiravamos um volume-padrão do ponto A e outro do ponto B, seu oposto, efetuando a contagem de larvas. À esta altura lavavamos o molusco ràpidamente em água, a fim de afastar as larvas porventura aderentes, e o recolocavamos no vidro de relógio, desta vez no ponto B. Deixavamos passar mais 15 minutos, repetindo a seguir a contagem nos dois pontos.

Efetuamos um total de 50 experiências. O número total de larvas contadas foi de 1 022. A sua densidade variava entre 2 por cc e 20 por cc. Como a soma dos resultados de experiências tão pouco homogêneas conduz forçosamente a vícios de interpretação, decidimos expressar as contagens nos pontos A e B como múltiplos da densidade média de miracídios, determinada no início da experiência. Os resultados parciais estão reproduzidos na Tabela 1.

TABELA I

Exp. no.	Densidade miracidios no./1,2 cc	Contagens efetuadas				Exp. no.	Densidade miracidios no./1,2 cc	Contagens efetuadas			
		No fim de 15 minutos		No fim de 30 minutos				No fim de 15 minutos		No fim de 30 minutos	
		A	B	A	B			A	B	A	B
1	3	6	0	3	1	26	5	7	1	2	9
2	1	1	2	0	1	27	6	6	1	5	2
3	2	6	4	1	1	28	1	1	2	2	1
4	1	3	0	1	1	29	2	5	5	2	5
5	1	3	0	2	1	30	7	12	5	3	9
6	2	2	1	2	1	31	4	8	1	4	3
7	4	5	4	5	2	32	2	0	4	0	2
8	6	9	6	11	7	33	3	0	2	1	2
9	6	20	2	20	6	34	2	0	1	2	1
10	4	8	2	6	4	35	3	0	0	0	0
11	7	13	1	6	3	36	2	1	1	2	2
12	7	8	3	0	4	37	5	3	4	3	3
13	4	13	3	7	5	38	5	22	1	1	8
14	1	2	1	0	0	39	9	10	0	2	11
15	1	1	0	0	0	40	4	40	1	3	12
16	1	1	0	1	0	41	10	23	0	6	14
17	1	1	3	0	3	42	2	2	1	1	1
18	1	11	0	0	5	43	1	5	1	0	2
19	3	3	2	1	2	44	2	1	0	0	0
20	7	9	0	4	7	45	2	0	0	3	2
21	8	13	0	9	1	46	4	9	4	5	8
22	4	25	1	10	1	47	6	10	5	6	3
23	1	5	0	1	6	48	5	11	2	2	8
24	6	13	1	4	4	49	4	13	4	1	6
25	2	20	2	4	0	50	5	13	4	7	6

A média das 50 experiências mostra que, para cada miracídio contado antes do início da experiência, o seguinte número de larvas foi recuperado:

No fim de 15 minutos		No fim de 30 minutos	
A	B	A	B
2.33	0.62	0.87	1.13

O aumento de concentração nas proximidades do molusco e o seu decréscimo do lado oposto é argumento favorável à existência de um tropismo entre molusco e larva. A significância destes resultados pode ser avaliada pelo fato de que sòmente em 7 experiências foi maior a concentração em B no término dos primeiros 15 minutos. Seis destas pertencem ao grupo de determinações feitas com concentrações baixas de miracídios (menos de 4 por cc). A nossa contagem não compreende, é óbvio, as larvas que no decorrer da experiência conseguiram a penetração; quando a densidade larvária fôr baixa, é natural que o número de larvas assim subtraídas à contagem constitui fração ponderável do número total atraído para perto do hospedeiro intermediário.

Bem menos impressionantes são os resultados ao cabo de 30 minutos. A mudança do molusco para B não se faz acompanhar de uma reversão do fenômeno observado após 15 minutos; se antes a densidade de miracídios na vizinhança do molusco era quase 4 vêzes aquela verificada do lado oposto, agora a densidade é apenas 30% maior. Não sabemos se atribuir isto á perda de vitalidade das larvas em função do tempo ou ao fato de restar no ponto A o rastro do molusco e uma substância por êle libertada, estímulos à permanência dos miracídios. Mais tarde voltaremos a êste ponto.

SÉRIE B (Vide figura 2)

Numa placa de Petri de 20 cm de diâmetro colocavamos 100 cc de uma suspensão de miracídios. Após agitação do líquido retiravamos volume-padrão (0, 77 cc) nos pontos 4, 5, 6, 7, assim determinando a densidade média de larvas. Nos pontos 1, 2 e 3, vértices de um triângulo equilátero, colocavamos, respectivamente, um molusco com cêrca de 10 mm de diâmetro, amarrado por um fio fino a fim de impedir sua locomoção ampla, um molusco amassado entre dois pedaços de papel de filtro e com uma concha sêca por cima, uma concha lavada e sêca. Podíamos assim comparar, em relação à atração exercida, três corpos estranhos de aspecto semelhante, um deles vivo e em locomoção restrita, outro morto, imóvel, disseminado no meio das mesmas substâncias.

Decorridos 5 e 10 minutos determinavamos a concentração larvar em 1, 2 e 3. De 15 a 90 minutos determinavamos as concentrações em todos os sete pontos assinalados na figura.

Efetuamos assim 10 experiências, contando um total de 2117 miracídios. As densidades médias iniciais variavam entre limites amplos, desde 2,3 até 18,9 larvas por cc.

TABELA 2

Exper. no.	Densidade miracídios no./1 cc	Número total de miracídios recuperados nos pontos						
		1	2	3	4	5	6	7
1	5,5	21	46	11	3	0	5	7
2	2,3	10	48	2	3	6	2	2
3	16,2	187	150	42	8	12	4	27
4	18,9	375	220	46	26	18	30	34
5	3,5	26	45	7	1	0	0	3
6	3,3	39	19	6	0	0	1	2
7	3,9	53	25	3	1	1	5	3
8	4,9	39	82	29	2	2	3	5
9	3,0	43	117	52	0	5	17	2
10	3,9	35	41	11	2	24	13	8

Não reproduzimos os resultados parcelados. Na Tabela 2 estão correlacionados o número de miracídios recuperados em cada um dos pontos, nas dez experiências. Abaixo reproduzimos os resultados globais, ainda aqui em forma de múltiplos da densidade larvar média inicial.

Tempo (minutos)	Densidade de larvas nos pontos						
	1	2	3	4	5	6	7
5	3.34	2.62	0.75				
10	2.12	4.33	0.60				
15	1.70	1.96	0.95	0.21	0.50	0.34	0.30
30	1.35	2.42	0.51	0.14	0.14	0.56	0.31
45	1.95	2.07	0.50	0.80	0.11	0.28	0.33
60	1.51	3.07	0.85	0.21	0.62	0.32	0.34
90	1.57	1.93	0.66	0.05	0.14	0.26	0.17
Média	1.93	2.63	0.69	0.28	0.30	0.35	0.29

Também nesta série verificamos nítido aumento de concentração nas proximidades do molusco; o mesmo fenômeno é verificado em tôrno do molusco esmagado, comportando-se o ponto 2, neste particular, mais ativamente que o ponto 1 depois dos primeiros 5 minutos, provàvelmente em virtude de maior quantidade de substância ativa libertada pelo esmagamento. Estamos com tôda a probabilidade autorizados a afirmar que a maior parte, senão a totalidade, da atração exercida pelo molusco é de natureza química.

Esta série forneceu dados igualmente homogêneos: em tôdas as experiências, menos a de número 9, a densidade em tôrno da concha vazia é menor que as densidades em 1 e 2. Mesmo esta exceção é apenas parcial, pois a densidade em tôrno do molusco esmagado mostrou ser mais de duas vêzes aquela em tôrno da concha vazia.

Parece-nos lícito afirmar que, ao contrário da opinião de ABDEL-MALEK (3), a presença de um corpo estranho não é fatôr determinante de uma atração mais do que passageira e diminuta. Sem dúvida, a densidade é maior em 3 que nos pontos 4-7; não sabemos decidir se a causa é a posição periférica da concha, coincidindo portanto com a trajetória dos miracídios que bordejam a placa de Petri, ou se a concha foi mal lavada e substâncias residuais estejam exercendo uma atração proporcional à sua concentração.

A concentração em 2 atinge seu máximo em 10 minutos, ocasião em que a concentração em 1 já entrou em declínio. Possìvelmente, isto depende da lenta difusão através do papel de filtro das substâncias contidas no molusco esmagado.

SÉRIE C

Nesta série de experiências se repetem as condições experimentais da série A, com duas distinções a fazer: 1) o molusco continuava em seu lugar, no ponto A, durante todos os 30 minutos da experiência; 2) em cada vidro de relógio acrescentavamos um macerado de molusco feito em liquidificador, correspondendo à substância de um molusco de dimensões médias por experiência.

Cêrca de dois e meio meses haviam decorrido desde a realização das experiências da série A, tendo sido utilizados fezes de outra paciente e moluscos de outras gerações, com a introdução eventual de novas variáveis. Por êste motivo

TABELA 3

Exper. no.	Número de miracídios recuperados									
	Com macerado					Contrôle				
	Densidade miracídios no./1 cc	No fim de 15 minutos		No fim de 30 minutos		Densidade miracídios no./1 cc	No fim de 15 minutos		No fim de 30 minutos	
		A	B	A	B		A	B	A	B
1	1,3	0	0	4	0	1,3	8	1	1	3
2	0,0	6	1	1	0	5,2	8	2	5	2
3	2,6	1	2	1	2	3,9	1	2	0	2
4	1,3	0	1	2	1	0,0	4	1	2	1
5	6,5	2	2	3	3	1,3	0	0	3	1
6	7,8	7	1	5	2	11,7	8	2	7	4
7	6,5	0	5	2	0	2,6	6	3	0	5
8	1,3	0	1	3	1	7,8	3	4	3	4
9	9,1	2	2	0	2	0,0	5	2	1	2
10	3,9	8	5	16	6	7,8	13	1	20	1
11	7,8	3	9	4	3	7,8	50	0	4	1
12	14,3	60	5	17	7	19,5	50	3	30	2
13	13,0	9	4	8	2	13,0	30	2	6	2
14	9,1	11	5	12	5	9,1	50	1	18	1
15	10,4	13	2	6	3	7,8	40	0	20	0
16	10,4	10	4	12	0	9,1	80	2	14	1
17	9,1	7	9	7	3	6,5	14	1	21	0
18	2,6	4	5	1	2	6,5	12	2	21	0
19	5,2	8	1	4	0	1,3	12	1	5	1
20	5,2	4	2	4	2	1,3	22	0	3	1
21	2,6	3	0	0	0	9,1	18	2	5	0
22	3,9	14	0	5	2	3,9	22	0	4	0
23	16,9	16	2	27	3	26,0	60	1	25	2
24	19,5	25	11	7	5	10,4	90	2	25	5
25	16,9	19	9	25	2	9,5	40	3	30	7

não confrontamos os resultados com aquêles da série A, preferindo empregar por experiência uma placa-controle, idêntica em tôdas as condições menos no que diz respeito a adição de macerado de molusco.

O raciocínio que levou à realização destas experiências foi o seguinte: se um esmagado de molusco reproduz a atração exercida pelo próprio molusco (Série B), deveriamos supôr que uma suspensão de macerado devesse desorientar o miracídio, em maior ou menor grau dificultando o encontro entre larva e hospedeiro intermediário.

Em tôdas as experiências acautelamo-nos contra erros pessoais e estandardisamos o tempo de contagem de cada amostra colhida; pensamos ter afastado, tanto quanto possível o subjetivismo na contagem. A contagem de miracídios em movimento contra um fundo escuro se mostra, entretanto, extremamente fácil, apenas uma densidade larvar muito elevada torna morosa a contagem. Entretanto, a diferença entre as experiências desta série e os seus controles é tão flagrante que nenhuma causa de êrro pode ser invocada.

Os resultados parciais estão reproduzidos na tabela 3, ainda como múltiplos da densidade média inicial. Os resultados globais são os seguintes:

	No fim de 15 minutos		No fim de 30 minutos	
	A	B	A	B
Com macerado	1.55	0.76	1.37	0.48
Controles	5.12	0.14	1.59	0.63

Nesta série contamos um total de 1850 larvas. Efetuamos 25 experiências e 25 controles, as densidades larvares variando entre 1 por cc e 20 por cc.

Os resultados dos controles são muito mais interessantes que aquêles da série A. Atribuimos êste fato à maior vitalidade das larvas; a maior parte das experiências foi realizada utilisando fezes formadas e desde o início verificamos que os miracídios tinham movimentos mais rápidos que os miracídios aos quais estavamos habituados, só mais tardiamente tomando a forma "em pera", tão característica do esgotamento.

Parece-nos incontestável a proteção que a presença do macerado confere ao molusco; observamos que, para cada miracídio recuperado em A após 15 minutos, 3.30 miracídios são contados no mesmo ponto nas experiências contrôle. Evidentemente a proteção não pôde ser completa; a concentração de substância ativa na proximidade do molusco será sempre maior. Pensamos, porém, que em outras condições experimentais a proteção possa tornar-se quase total. Um aquário de dimensões maiores que contenha água em movimento, constantemente removerá a substância libertada de junto do molusco, não havendo oportunidade para o seu acúmulo.

Ao mudar a posição do molusco na segunda parte das experiências da série A notamos que a concentração de larvas não se adaptava a esta alteração, tendo sido verificada pequena diferença entre as concentrações em A e B ao cabo de 30 minutos. Comparando êstes dados com os resultados da série presente parecenos inconcebível que fatôres relacionados à vitalidade dos miracídios sejam os responsáveis por êste fenômeno. Somos forçados a admitir que a remoção do molusco não interrompe o tropismo das larvas para o ponto A, em virtude da permanência de substâncias libertadas pelo molusco em seu derredor.

O número de experiências não é suficiente para autorizar conclusões mais amplas sôbre a fisiologia do miracídio de *S. mansoni*. Os dados colhidos sugerem-nos mais algumas hipóteses; preferimos, porém, aguardar pesquisas mais minuciosas neste campo.

Nada sabemos da especificidade do quimiotropismo que acabamos de admitir; é possivel que outros organismos exerçam atração sôbre as larvas de *S. mansoni*, é possivel que outros extratos orgânicos e quiçá inorgânicos possam conferir proteção à infestação do molusco.

A constatação de um quimiotropismo ativo e eficiente não exclui outros fatôres capazes de determinar o encontro da larva com o seu hospedeiro intermediário. A larva é de surpreendente atividade e em pouco tempo percorre grande extensão do aquário; na presença de elevada concentração de moluscos não é necessário admitir-se mecanismo à distância para explicar o encontro e conseqüente penetração. Mas, sem dúvida, é maior a probabilidade de completar-se o ciclo do helminto com o auxílio do quimiotropismo que admitindo a simples casualidade como fatôr único. A atividade própria da larva leva-a para junto de seu hospedeiro potencial; a presença de substâncias libertadas pelo molusco a retem.

RESUMO

Efetuando a contagem dos miracídios concentrados em diferentes pontos de uma placa de vidro, o autor conclui:

1. Pela experiência de um tropismo entre larva e hospedeiro, eficiente pelo menos nas imediações do molusco.

2. Que êste tropismo é resposta à libertação, pelo molusco, de substâncias ativas, visto que um molusco esmagado exercia a mesma ordem de atração.

3. Que a presença de um corpo estranho não é fator que exerça atração. Uma concha vazia não foi objeto de interêsse por parte das larvas.

4. Que é possível proteger o molusco, parcialmente, contra a infestação, utilizando-se macerados de molusco em suspensão na água do aquário. Admitimos a possibilidade de poder demonstrar proteção ainda maior, sendo preciso efetuar experiências com aquários de dimensões maiores, contendo água em agitação constante.

Encarecemos a necessidade de pesquisas mais completas neste campo. Ainda não sabemos se o quimiotropismo demonstrado é específico; admitimos a possibilidade de outras substâncias orgânicas e mesmo inorgânicas realizarem proteção ainda mais completa contra a infestação pelo miracídio.

SUMMARY

While endeavouring the study of the attraction between miracidia of *S. mansoni* and the snail *A. glabratus* we carried out 85 experiments and counted a total of about 5.000 larvae.

The main points to be stressed are:

1. There is a definite tropism between miracidium and snail, at least in the immediate vicinity of the latter.

2. A substance liberated by the snail is responsible for the tropism. We found that a ground-up snail exhibits the same degree of attraction as the live snail.

3. The density of miracidia near an empty shell of *A. glabratus* was not significantly higher than random. It does not seem true that any foreign body will attract larvae.

4. We were able to protect the snails against miracidia by adding a snail macerate to the dish. For each larvae found in the vicinity of the snails in these experiments, 3.30 larvae were found when no macerate was added. While the protection afforded is not complete, we believe that experiments carried out in larger aquaria with continuous agitation of the water will show improved protection.

We think that further work along these lines will prove to be fruitfull. We do not know yet if tropism is specific. We admit the possibility that other organic extracts as well as inorganic compounds may afford a still higher protection against miracidia.

BIBLIOGRAFIA

1. Faust, E. C. & Hoffman, W. A., 1934, Studies on Schistosomiasis mansoni in Puerto Rico. III. Biological studies. 1. The extra-mammalian phases of the life cycle. *Puerto Rico J. Publ. Health and Trop. Med.*, 10 (1): 1-47, 2 figs., 5 pls.

2. Lutz, A., 1916, Observações sobre a evolução do *Schistosomum mansoni*. Nota prévia. *Braz. Med.*, 30 (49): 385-387.

3. Abdel-Malek, E. T., 1950, Susceptibility of the snail *Biomphalaria boissyi* to infection with certain strains of *Schistosoma mansoni*. *Amer. J. Trop. Med.*, 30 (6): 887-894.

4. Wright, C. A., 1956, Some factors affecting the susceptibility of snails to infection with miracidia of *Schistosoma* spp. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 49 (6): 1211-1220.

5. Maldonado, J. F. & Acosta-Matienzo, J., 1948, Biological studies on the miracidium of *Schistosoma mansoni*. *Amer. J. Trop. Med.*, 28 (5): 645-657.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 233-236
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

PROPAGAÇÃO DO VIRUS "A" DA FEBRE AFTOSA EM CULTURA CONTÍNUA DE CÉLULAS EPITELIAIS, NORMAIS, DE ORIGEM BOVINA (Nota prévia)[1]

FÚLVIO JOSÉ ALICE
Instituto Biológico, Salvador, Bahia

(Com duas figuras no texto)

A cultura do virus da Febre Aftosa em tecidos, tem sido estudada por diferentes pesquisadores (1, 2, 3, 4, 5), empregando células epiteliais dispersas. Conquanto a maior parte dos trabalhos publicados se referiam ao uso de células do epitélio renal de bovino ou suino, tem-se obtido cultura do virus em células anióticas (3); células do epitélio da língua (4) e em fragmentos de pulmão e coração, inclusos em coágulo de plasma (5), tecidos êstes provenientes de bovinos ou suinos adultos, ou de fétos das mesmas espécies. A atividade do virus, titulações, efeito da variação do pH, temperatura de incubação e ação do formol (6), tem sido apreciados pelo efeito citopatogênico ou pela formação de placas.

A presente nota se refere, em resumo, a propagação do tipo "A" do virus da Febre Aftosa, em cultura de células epiteliais, normais, de orígem bovina, adaptadas à cultura contínua.

MÉTODOS E MATERIAL

A) *Virus*: Amostra padrão do tipo "A" do virus da Febre Aftosa foi obtida do Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro, por gentileza do Dr. Renato Augusto da Silva. Neste laboratório, o virus foi passado 3 vêzes em bovino. Para execução da 1.ª inoculação em células epiteliais, o epitélio da língua foi emulsionado a 20% em salina tamponada (pH 7.4), à qual, depois de centrifugada por 5 minutos a 5.000 rpm, se adicionou 2.000 unidades de penicilina e 0,002 g de estreptomicina. A emulsão assim tratada permaneceu 30 minutos em geladeira a 4°C, depois do que se adicionou igual volume de salina tamponada e se procederam culturas em aerobiose, anaerobiose e em células epiteliais de 3 dias de idade. Para comprovação da presença do virus na emulsão, se utilisaram camundongos lactentes, até 6 dias de idade, inoculados pela via peritonial, com 0,05 cc.

[1] Recebido para publicação a 5 de fevereiro de 1958.

B) *Células epiteliais*: Em nosso laboratório, 3 tipos de células epiteliais, normais, de orígem bovina, foram adaptadas à cultura contínua, sendo que a maior parte dos experimentos aquí relatados foram executados sôbre um dos tipos, embora o virus se tenha revelado patogênico para os outros dois. O meio de cultura para as células consistiu em SSB de Hank's — 60%; sôro normal de cavalo — 30%; hidrolizado de lactalbumina a 5% em Hank's — 10%; pH ajustado entre 7.2 e 7.4, pela adição de bicarbonato. Para a cultura do virus, removia-se o meio de cada tubo os quais depois de lavados com 1 ou 2 cc de Hank's sem bicarbonato, foram inoculados com 0,10 cc de emulsão do epitélio da língua, no caso da 1.ª passagem, ou com igual volume de líquido infectante da passagem anterior. Em seguida se adicionou 0.9 cc. de meio de cultura composto de partes iguais de Hank's e 199 (Difco), 5% de sôro normal de cavalo e antibióticos usuais. Meios de composição mais simples foram experimentados com resultados igualmente satisfatórios. Os tubos, depois de inoculados, retornavam a estufa a 37°C, por espaço de 18 a 20 horas ou menos, dependendo do experimento a ser executado.

RESULTADOS

A estirpe do virus usado (tipo "A") apresentou efeito citopatogênico a partir da 4.ª passagem. A princípio as células se tornavam arredondadas, agrupadas, para, em seguida, desprenderem-se inteiramente das paredes dos tubos. Sôro de bovino imune contra o virus "A", também obtido do Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro, neutralizou aproximadamente $10^{5.00}$ doses infetantes mínimas. O sôro imune, quando misturado com o virus da cultura, impediu o efeito citopatogênico, ao passo que nos tubos inoculados com sôro normal, o virus destruiu inteiramente as células. Titulações do virus, executadas na 8.ª, 9.ª, 10.ª e 15.ª passagens, atingiram títulos superiores a $10^{6.50}$ — leitura baseada sôbre o efeito citopatogênico, depois de 24 horas de incubação a 37°C, e calculada pelo método de Reed & Muench — 50% de infecciosidade (7). Titulações em camundongos lactentes, inoculados pela via peritonial, com líquido de cultura entre 18 e 20 horas de incubação, foram realizadas na 5.ª, 8.ª e 10.ª passagens, tendo atingido títulos que variaram entre $10^{4.50}$ e $10^{6.00}$.

Na 7.ª passagem, a cultura do virus foi ensaiada em bezerros e cobáias. Três bezerros, entre 6 e 8 meses de idade, foram inoculados na língua, com cultura não diluída e três cobáias, no coxim plantar. Dois bezerros apresentaram vesículas extensas, elevação térmica e generalização da doença, ao passo que, no 3.º, as vesículas eram menos pronunciadas, a elevação térmica menos acentuada e não houve generalização. As cobáias apresentaram manifestação característica de Aftosa, com febre, formação de vesículas e generalização. Para verificação da presença do virus, o epitélio da língua de cada bezerro e do coxim plantar de cada uma das cobáias foi inoculado, separadamente, em camundongos lactentes, que apresentaram sintômas de Aftosa e morreram em conseqüência da infecção.

SUMÁRIO E CONCLUSÕES

O tipo "A" do virus da Febre Aftosa se multiplicou satisfatòriamente em células normais de orígem bovina, adaptadas à cultura contínua. O efeito citopatogênico, que a princípio se tornou evidente na 4.ª passagem, manifestou-se pelo arredondamento e agrupamento das células, as quais se desprendiam totalmente das paredes do tubo, no fim de 18 a 20 horas de incubação a 37°C. Títulos superiores a $10^{6.50}$ foram verificados em diferentes provas — leitura baseada sôbre o efeito citopatogênico. Em camundongos lactentes, os títulos variaram entre $10^{4.50}$ — $10^{6.00}$.

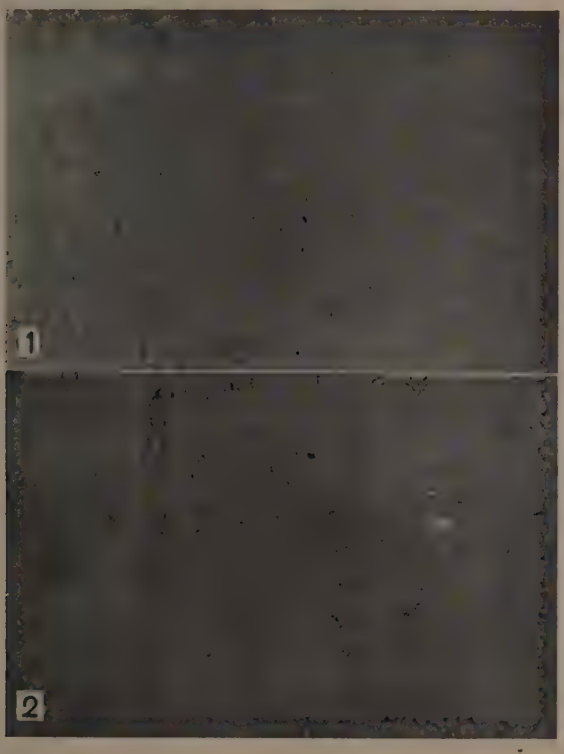


Fig. 1 — Células não infectadas, 7 dias de idade. Fig. 2 — Células infectadas, 18 horas após inoculação. Microfotos tomadas em tubo de ensaio.

A maior parte das observações foi realizada em meio de cultura composto de partes iguais de Hank's e 199, a cuja mistura se adicionou 5% de sôro normal de cavalo. O virus, entretanto, se desenvolveu em meios de composição mais simples, a base de Hank's, hidrolizado de lactalbumina e sôro normal de cavalo.

Bezerros e cobáias inoculados com o virus cultivado, apresentaram sintomas característicos da doença. Em apenas um dos bezerros, a enfermidade foi menos pronunciada, provàvelmente conseqüência de imunidade adquirida por infecção anterior.

A especificidade do virus foi determinada pela prova de neutralização. Sôro imune contra o tipo "A", impediu o efeito citopatogênico, que foi total nos tubos inoculados com sôro normal e virus.

Os tipos "O" e "C" do virus da Febre Aftosa estão sendo estudados, adotando-se, aproximadamente, os mesmos métodos de trabalho.

A técnica de cultura contínua de células normais, parece facilitar os estudos sôbre o comportamento do virus em cultura, não só porque exclui a necessidade de emprego de órgãos para tripsinização, como porque simplifica a execução dos trabalhos.

SUMMARY

The foot-and-mouth disease virus (A type) was propagated on a continuous normal epithelial-like cells from bovine. Hank's BSS — 70%; 5% of lactalbumin hydrolysate solution — 10%; normal horse serum — 20% and the usual antibiotics was the medium for growing the cells. A mixture of equal parts of Hank's and 199 (Difco) to which 5% of horse serum was added, was the medium for virus propagation. Hank's lactalbumin hydrolysate and horse serum supported the growth of the virus as well. Cytopathogenic damage was first seen on the 4th transfer. From then on complete destruction of the cells occurs in less than 18 hours at 37°C.

Tissue culture titrations (TC — $ID_{50\%}$) reach titers higher than $10^{6.50}$. In wealing mice the titers fluctuated around $10^{4.50}$ to $10^{6.50}$. Culture fluid was infective to calves and guinea pigs, with generalization in the guinea pigs and in 2 out of the 3 inoculated calves. Antiserum for the A type of virus prevented cell damage, while in the tubes inoculated with normal serum-virus mixture, the citopathogenic effect was evident and complete.

The O and C types of virus are under studies following the same methods.

REFERÊNCIAS

1. Sellers, A. F., 1955, Growth and titration of the virus of foot-and-mouth disease and vesicular stomatitis in kidney monolayer tissue culture. *Nature* (Lond.), 176: 547.
2. Bachrach, H. L., Hess, W. R. & Callis, J. J., 1955, Foot-and-mouth disease virus: its growth and cytopathogenecity in tissue culture. *Science*, 122: 1269.
3. Petermann, H. G., Lang, R. & Mackowiak, C., 1956, Propagation du virus de la fievre aphteuse en culture. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, 243: 991.
4. Cartwright, S. F., Pay, T. W. & Henderson, W. M., 1957, Multiplication of the virus of foot-and-mouth disease in culture. *J. gen. Microbiol.*, 16: 730.
5. Meléndez, L. V., Gaggero, A. C., Rodriguez, R. T. & Norambuena, M. G., 1957, Multiplication of foot-and-mouth disease virus in adult kidney, and embryonic lung and hearth bovine tissue culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 95: 696.
6. Bachrach, H. L., Breese, S. S., Callis, J. J., Hess, W. R. & Patty, R. E., 1957, Inactivation of foot-and-mouth disease virus by pH and temperature changes and formaldehyde. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 95: 147.
7. Reed, L. T. & Muench, H., 1938, A simple method of estimating fifty per cent end points. *Amer. J.Hyg.*, 27: 493.

Rev. Brasil. Biol., 18 (2) : 237-241
Junho, 1958 — Rio de Janeiro, D. F.

A PRIMEIRA ESPÉCIE NEOTROPICAL DA FAMÍLIA "TYMPANOPHORIDAE" (Orthoptera, Tettigonioidea)[1]

S. DE TOLEDO PIZA JR.
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, S. Paulo

(Com 3 figuras no texto)

A família *Tympanophoridae,* segundo CAUDELL (1912), conta apenas com dois gêneros, *Tympanophora* White, erigido com base num macho e *Mortoniellus* Griffini, com base numa fêmea (1909). A descrição, muito resumida, do primeiro, transcrita por CAUDELL, se completa com a redescrição da espécie-tipo, *Tympanophora pellucida,* feita por BRUNNER (1892). Ambos os gêneros são exóticos, *Tympanophora* ocorrendo na Austrália e *Mortoniellus* em Sumatra. Porisso, só agora resolvi me pronunciar sôbre o material que me veio às mãos há cêrca de dez anos, por gentileza do Departamento de Zoologia de São Paulo, proveniente de Salesópolis, Boracéa, constante de três machos, aos quais incorporei uma fêmea, proveniente do Estado do Rio, que há muitos anos figurava nas coleções daquele Departamento.

Os escrobos antenais de margem um tanto salientes, pondo-se em contato superiormente, entre as antenas, apontavam para a Fam. *Pseudophyllidae.* Entretanto, o facies dos machos e sobretudo a presença de um espinho apical no bordo externo das tíbias posteriores, tanto dos machos como da fêmea, não permitiram a colocação dos exemplares estudados em qualquer família que não fôsse a *Tympanophoridae.* Fui, porém, obrigado a criar um gênero novo, descrito a seguir, o qual, sem dúvida, vem consolidar a situação de uma família, até o presente, extremamente precária.

Megatympanon g. n.

♂ —Caput superne regulariter rotundatum, antice subdeplanatum. Oculi prominentes, spherici. Antennae inter oculos sitae, articulo primo crasso, inermi.

[1] Recebido para publicação a 17 de janeiro de 1958.

Scrobes antennarum marginibus modice elevatis ut in nonnullis speciebus *Pseudophyllidarum,* inter antennas altioribus et tangentibus. Frons superne area ocelliformi in medio praedita. Fastigium verticis pyriforme, apice obtuso, superne in medio longitudinaliter sulcatum, lateraliter inconspicue ocellatum. Clypeus triangularis. Labrum rotundatum. Articulus ultimus palporum apice truncatus et excavatus. Pronotum parte anteriore rotundata, transversim sulcata, per capitem modice ascendente, metazona vix tectiformi, elevata, margine postico angulato-rotundato, lobis lateralibus sulcatis, antice rotundatis, inferne paulo obliquiis deinde rotundatis, postice late angulatis. Pedes 4 anteriores breves, 2 posteriores longi. Coxae omnes superne et inferne spinosae. Trochanteres I et II inferne spina armati. Femora omnia superne rotundata et inermia, inferne plana, marginibus prominentibus spinosis, lobis apicalibus spinis 2 armatis. Tibiae anticae superne rotundatae et omnino inermes, foraminibus utrinque rimatis, inferne planae, spinis validis numerosis utrinque armatae. Tibiae intermediae anticis similes sed superne etiam spinis nonnulis postice tantum instructae. Tibiae posticae superne et inferne planae, marginibus omnibus spinulosis necnon spina apicali extus armatae. Articulus secundus tarsorum apice profunde incisus. Prosternum bispinosum, meso metasternumque lobis triangularibus acutissimis praedita. Elytra perfecte explicata, membranacea, laevia, translucida, apice angulato-rotundato, tympano amplissimo vitreo praedita. Alae hyalinae longitudine elytrorum. Lamina supraanalis triangularis. Cerci conici, basi crassi, apice acuti, incurvi. Lamina subgenitalis tricarinata, carinis lateralibus rotundatis, carina mediana acutissima, apice profunde incisa, stylis parvis instructa.

♀—Mari similis sed robustior, capite majore, elytris alisque brevioribus, pronoto crassiore. Ovipositor robustus, modice recurvus, basi incrassatus, apice acute angulatus.

Typus: *Megatympanon speculatum* sp. n.

O presente gênero difere de *Tympanophora* pelos olhos esféricos (alongados em *Tympanophora),* pela forma e disposição dos ocelos (dispostos em triângulo como em certos Mantídeos, em *T.),* pela armação das coxas anteriores (providas de um dente em *T.)* e pela armação dos esternos torácicos ("la poitrine est très comprimée et mutique" em *T.,* segundo Brunner).

Difere de *Mortoniellus* pelas asas e élitros bem desenvolvidos (as fêmeas de *M.* são ápteras), pelo abdômen muito volumoso (*sat gracile,* em *M.),* pela forma dos olhos (*ovato-rotundati,* em *M.),* pelos espinhos do prosterno e pelos lobos do mesosterno e metasterno (*Prosternum, mesosternum, metasternum bituberculata, tuberculis modicis longis, apice rotundatis,* em *M.),* pelos espinhos inferiores das tíbias anteriores (apenas 5 de cada lado, em *M.),* pelos espinhos dorsais das tíbias intermédias (apenas um, em *M.),* e pela forma dos fêmures posteriores (*basi valde incrassata,* em *M.).*

Megatympanon speculatum sp. n.

♂ — Statura magna, viridis. Caput, pronotum pedesque nonnunqua partim

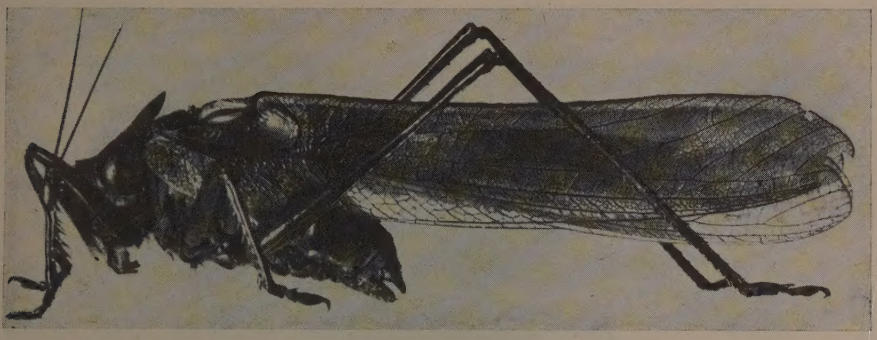


Fig. 1 — *Megatympanon speculatum* sp. n., macho.

lutescentia. Oculi castanei. Antennae castaneae. Abdomen maculis rubris

Fig. 2 — *Megatympanon speculatum* sp. n., macho.

conspersum. Metazona pronoti, in exemplo unico, plaga magna, triangulari, nigra, ornata. Femora 4 anteriora subtus spinis triangularibus castaneis 6-8 utrinque armata, nonnullis parvulis intermixtis; femora postica basi modice incrassata, inferne spinis numerosis majoribus minoribusque intermixtis utrin-

Fig. 3 — *Megatympanon speculatum* sp. n., fêmea.

que praedita. Tibiae anteriores subtus spinis validis, apice nigris, 9 utrinque armatae, prima parvulissima; tibiae intermediae marginibus inferioribus spinis 10 necnon spinis 2-4 serie singula formantibus superne armatae; tibiae posticae multispinosae. Prosternum spinis 2 validissimis, mesosternum metasternumque lobis triangularibus magnis, sat acuminatis instructa. Elytra elongata, parallela, marginibus vix procurvis, apice angulato-rotundato, campo antico laxe reticulato, campo postico minutissime tesselato, tympano permagno a vena tumefacta, curva, in specula duo diviso, praedita. Alae hyalinae, apicem elytrorum haud superantes. Cerci brevis, conici, basi crassi, apice curvo, mucronato. Lamina subgenitalis profunde triangulariter fissa, lobis angulato-rotundatis, stylis parvulis, cylindricis.

♀ — Quam mas robustior. Caput magnum, ocelli fastigii verticis quam maris evidentiores, pronotum valde crassum, elytra alaeque quam maris breviora, abdomen crassum, ovipositor validus, castaneus, cerci modice incurvi, apice haud mucronati.

	Mas	*Fem.*
Longitudo corporis	36 mm	47 mm
" pronoti	11	12,5
Latitudo pronoti	7	9
Longitudo elytrorum	68	42
Latitudo elytrorum	14	11
Longitudo tympanorum	14	—
" femorum anticorum	12	15
" femorum mediorum	12	15
" femorum posticorum	35	37,5
" ovipositoris		23

Tipo: Um macho de Salesópolis, Boracéa (Est. de S. Paulo, Brasil), coligido por Travassos Filho, Braz, Rabelo & Bokerman, no mês de março de 1948. Alótipo: Uma fêmea do Rio de Janeiro, determinada como *Cerberodon viridis* Perty, pertencente ao Departamento de Zoologia, onde tem o n.º 92.141, presentemente na coleção do A. Parátipos: Dois machos da mesma procedência do tipo, coletados pelas mesmas pessoas, na mesma data.

REFERÊNCIAS

Brunner de Wattenwyl, 1893, Revision du Système des Orthoptères et description des espèces rapportées par M. Leonard Fea. *Ann. Mus. Civ. Stor. Natur. Genova*, (2) 13 (33): 181-182.

Griffini, A., 1909, In torno a due Ortotteri Saltatori raccolti a Sumatra dal Dr W. Morton. *Wiener Ent. Zeit.*, 28: 107-109.

Caudell, A. N., 1912, Gen. Insect. Orthoptera, Fam. Locustidae, Tympanophorinae. 138ª Fasc.: 11-12.